

MiSeq

Priručnik za sustav



Ovaj dokument i njegov sadržaj vlasništvo su tvrtke Illumina, Inc. i njezinih povezanih društava („Illumina”) te su namijenjeni isključivo za ugovornu upotrebu klijentima u vezi s proizvodima opisanima u njemu. Dokument i njegov sadržaj ne smiju se upotrebljavati ni distribuirati ni u koju drugu svrhu niti se smiju na neki drugi način prenositi, otkrivati ili reproducirati bez prethodnog pisanog odobrenja tvrtke Illumina. Illumina ovim dokumentom ne prenosi nikakve licence zaštićene svojim pravom na patent, žig, autorskim pravom ili običajnim pravom ni slična prava bilo koje treće strane.

Kvalificirano i odgovarajuće obučeno osoblje mora se strogo i bez iznimki pridržavati uputa u ovom dokumentu da bi se zajamčila pravilna i sigurna upotreba proizvoda opisanih u njemu. Prije upotrebe proizvoda nužno je s razumijevanjem pročitati cjelokupan sadržaj dokumenta.

AKO UPUTE U DOKUMENTU NE PROČITATE U CIJELOSTI TE IH SE NE PRIDRŽAVATE BEZ IZNIMKI, MOŽE DOĆI DO OŠTEĆENJA PROIZVODA, OZLJEDA KORISNIKA ILI DRUGIH OSOBA I DO OŠTEĆENJA DRUGE IMOVINE TE SE TIME PONIŠTAVAJU SVA JAMSTVA ZA PROIZVODE.

ILLUMINA NE PREUZIMA ODGOVORNOST ZA ŠTETE NASTALE USLIJED NEPRAVILNE UPOTREBE PROIZVODA KOJI SU OPISANI U OVOM DOKUMENTU (UKLJUČUJUĆI DIJELOVE TIH PROIZVODA I SOFTVER).

© 2018. Illumina, Inc. Sva prava pridržana.

Svi su žigovi vlasništvo tvrtke Illumina, Inc. i njezinih vlasnika. Konkretno informacije o žigovima potražite na adresi www.illumina.com/company/legal.html.

Povijest revizija

Broj dokumenta	Datum	Opis promjene
Broj materijala 20024228 Broj dokumenta 15027617 v04	Srpanj 2018.	Za načine rada Local Run Manager, listova s uzorcima i ručnog sekvenciranja dodane su nove mogućnosti. Reference na MiSeq Reporter zamijenjene su referencama na Local Run Manager. U dodatak Otklanjanje poteškoća dodano je rješenje za temperature raspone hladnjaka.
Broj materijala 20024228 Broj dokumenta 15027617 v03	Svibanj 2018.	Uklonjeni su zadano korisničko ime i lozinka potrebni za prijavu u operacijski sustav. Illumina preporučuje upotrebu vjerodajnica specifičnih za lokaciju. U odjeljak Customize System Settings (Prilagodba postavki sustava) dodane su informacije o servisu za proaktivno praćenje Illumina. U odjeljak za reagense dodana je napomena vezana uz obavezni temperaturni raspon hladnjaka. Vraćen je MiSeq Reporter te su uklonjene reference na Local Run Manager. Naziv vodiča promijenjen je iz naziva Priručnik za sustav za sekvenciranje MiSeq u Priručnik za sustav MiSeq. Unesene su manje izmjene teksta.
Broj materijala 20024228 Broj dokumenta 15027617 v02	Siječanj 2018.	Za načine rada Local Run Manager, listova s uzorcima i ručnog sekvenciranja dodane su nove mogućnosti. Reference na MiSeq Reporter zamijenjene su referencama na Local Run Manager. U dodatak Otklanjanje poteškoća dodano je rješenje za temperature raspone hladnjaka. U temi Prilagodba postavki sustava dodana je nova uputa za prikupljanje podataka o radu instrumenta. Naziv vodiča promijenjen je iz naziva Priručnik za sustav za MiSeq u Priručnik za sustav za sekvenciranje MiSeq.

Broj dokumenta	Datum	Opis promjene
Broj materijala 20000262 Broj dokumenta 15027617 v01	Rujan 2015.	<p>Naziv vodiča promijenjen je iz naziva Korisnički vodič za sustav MiSeq u Vodič za sustav MiSeq.</p> <p>Novo u MCS-u v2.6, dodane informacije o sustavu BaseSpace Onsite.</p> <p>Raspored informacija u vodiču promijenjen je tako da bude utemeljen na zadacima umjesto na zaslonima.</p> <p>Sve reference na zaslon dobrodošlice promijenjene su u početni zaslon.</p> <p>Dodane su informacije koje se nalaze u vodičima za pripremu reagensa iz komplet reagensa MiSeq, uključujući vrste protočnih članaka, sadržaj spremnika reagensa i upute za odleđivanje spremnika reagensa. Sve ostale informacije o kompletu reagensa MiSeq potražite na web-mjestu tvrtke Illumina na adresi support.illumina.com/sequencing/sequencing_kits/miseq_reagent_kit.html.</p> <p>Ispravljen je očekivani volumen ispiranja za ispiranje radi održavanja iz 17,25 ml u 51,75 ml.</p> <p>Ažuriran je redoslijed koraka tijekom rada tako da se najprije pripremi spremnik reagensa, a potom se po potrebi denaturiraju i razrijede biblioteke.</p> <p>Informacije za otklanjanje poteškoća premještene su u Dodatak A.</p> <p>Informacije o izlaznim mapama i pločicama protočnog članka premještene su u Dodatak B.</p> <p>Informacije o upravljanju datotekama premještene su u poglavlje Održavanje.</p> <p>Upute za ispiranje nakon obrade premještene su iz poglavlja Održavanje u poglavlje Sekvenciranje.</p> <p>Prijašnji naziv poglavlja „Provođenje obrade” promijenjen je u „Sekuenciranje”.</p> <p>Reference na primarnu analizu promijenjene su u analizu putem softvera RTA.</p> <p>Upute za razrjeđivanje za postupak ispiranja nakon obrade promijenjene su za ispiranje voda predložaka iz 6-postotnog NaOCl u 5-postotni NaOCl.</p> <p>Na popis potrošnog materijala koji mora pribaviti korisnik dodan je broj dijela za 5-postotni NaOCl.</p>
Broj dijela 15027617 Rev. O	Rujan 2014.	<p>Ažurirane su sljedeće informacije:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Novo u MCS-u v2.5, ažurirana je mogućnost ispiranja nakon obrade tako da obuhvaća ispiranje voda predložaka. • Ažurirane su upute za ispiranje nakon obrade s informacijama o natrijevu hipokloritu za ispiranje voda predložaka. • Dodan je očekivani volumen ispiranja za ispiranja nakon obrade. <p>Dodane su informacije o tijeku rada VeriSeq PGS o dodatnim resursima, mogućnostima obrade, mogućnostima sekundarne analize, ispiranju instrumenta i boji čepa protočnog članka.</p>

Broj dokumenta	Datum	Opis promjene
Broj dijela 15027617 Rev. N	Lipanj 2014.	Dodane su informacije koje se primjenjuju na tijek rada VeriSeq PGS. Ažurirane su informacije o metrici obrade za generiranje klastera i gustoću. Uklonjene su informacije o antivirusnom softveru. Pročitajte <i>MiSeq System Site Preparation Guide</i> (Vodič za pripremu mjesta za sustav MiSeq).
Broj dijela 15027617 Rev. M	Siječanj 2014.	Ažurirano u skladu s promjenom uvedenom u MCS-u v2.4: dodana je značajka grupiranja zapisnika za slanje datoteka za otklanjanje poteškoća.
Broj dijela 15027617 Rev. L	Listopad 2013.	Dodano je ponovno pokretanje softvera sustava kao korak prije obrade. Epruvete za mikrocentrifugu dodane su na popis potrošnog materijala koji mora pribaviti korisnik. Odjeljak <i>Softver sustava MiSeq</i> uklonjen je kao zasebno poglavlje te je sadržaj tog poglavlja raspoređen po cijelom vodiču. Uklonjene su informacije o mapama za prilagođene recepte. Uklonjene su informacije o preporučenim rasponima gustoće klastera za komplete reagensa MiSeq. Uklonjene su pojedinosti o kompletima reagensa MiSeq te je dodan pregled značajki kompleta reagensa. Detaljne informacije potražite u dokumentaciji za pripremu reagensa za komplet koji upotrebljavate. Dodan je sadržaj u obavijest o žigovima.
Broj dijela 15027617 Rev. K	Kolovoz 2013.	Ispravljene su pogreške u formatiranju.
Broj dijela 15027617 Rev. J	Kolovoz 2013.	Dodani su opisi obrade za MCS v2.3 i komplet reagensa MiSeq v3. Ažurirane su sljedeće informacije: <ul style="list-style-type: none"> • U odjeljak o kompletima reagensa i kompatibilnosti verzija dodan je komplet reagensa MiSeq v3. • U opis mape za prilagođene recepte dodana je podmapa v3. • Promijenjen je raspon gustoća klastera za v2; dodan je raspon za v3. • Dodan je put izlazne mape za slikovne datoteke. Ispravljani su kodovi crtičnog koda za nano protočne članke (D) i mikro protočne članke (G). Uklonjene su informacije o kompletu reagensa MiSeq, uključujući sadržaj i vrste protočnih članaka. Dodatne informacije potražite u dokumentu <i>MiSeq Reagent Preparation Guide</i> (Vodič za pripremu reagensa MiSeq, broj dokumenta 15044983).

Broj dokumenta	Datum	Opis promjene
Broj dijela 15027617 Rev. H	Ožujak 2013.	<p>Dodan je odjeljak pod naslovom <i>Koncepti instrumenta MiSeq</i>, u kojem se predstavlja tijek rada za analizu, datoteka manifesta i list s uzorcima.</p> <p>Uklonjene su informacije o generiranju FASTQ datoteke, formatima datoteke manifesta, pojedinostima tijekom rada za analizu te pojedinostima o listu s uzorcima. Informacije o tim temama potražite u dokumentu <i>MiSeq Reporter User Guide</i> (Korisnički priručnik za MiSeq Reporter), broj dijela 15028784, ili u dokumentu <i>MiSeq Sample Sheet Quick Reference Guide</i> (Kratki referentni priručnik za listove s uzorcima sustava MiSeq), broj dijela 15028392.</p> <p>Uklonjene su upute za pripremu prilagođenih otopina za pripremu. Dodatne informacije potražite u dokumentu <i>Using Custom Primers on the MiSeq</i> (Upotreba prilagođenih otopina za pripremu na instrumentu MiSeq), broj dijela 15041638.</p>
Broj dijela 15027617 Rev. G	Siječanj 2013.	<p>Uklonjene su upute za denaturiranje i razrjeđivanje biblioteka DNK-a te za pripremu PhiX kontrole tvrtke Illumina. Pročitajte dokument <i>Preparing DNA Libraries for Sequencing on the MiSeq</i> (Priprema biblioteka DNK-a za sekvenciranje na instrumentu MiSeq), broj dijela 15039740.</p> <p>Ažurirane su upute za ispiranje instrumenta informacijom o dodavanju 25 ml 10-postotnog sredstva Tween 20 u 475 ml vode laboratorijske kvalitete umjesto u 500 ml vode laboratorijske kvalitete.</p>
Broj dijela 15027617 Rev. F	Studeni 2012.	<p>Dodane su sljedeće nove informacije:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dodani su opisi novih kompleta reagensa MiSeq: nano kompleta reagensa MiSeq i mikro kompleta reagensa MiSeq. • Dodan je pregled vrsta protočnih članaka. • Dodan je opis tijeka rada za analizu obogaćenja. <p>Ažurirane su sljedeće informacije:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Novo u MCS-u v2.1, ažuriran je zaslon Perform Wash (Provođenje ispiranja) i na njega je dodana mogućnost ispiranja nakon obrade te naredba za podizanje dozatora. • Ažurirana je tablica kompatibilnosti verzija te su dodane informacije za nano komplet i mikro komplet. • Ažurirane su informacije o kompatibilnosti verzija i dodani su novi kompleti reagensa.
Broj dijela 15027617 Rev. E	Listopad 2012.	<p>Ažurirane su sljedeće informacije:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ispravljene su upute za pripremu PhiX kontrole i očekivana gustoća klastera pripremljene PhiX kontrole na 1000 – 1200 K/mm². • Dodana je napomena da se postupak denaturiranja i razrjeđivanja biblioteka <i>Priprema biblioteka</i> ne odnosi na biblioteke Nextera XT ni na biblioteke TruSeq Amplicon. • Naziv nadogradnje promijenjen je iz paketa proširenja sustava MiSeq u nadogradnju hardvera za MiSeq. • Na popis dodatnih resursa dodan je dokument <i>MiSeq Reporter User Guide</i> (Korisnički priručnik za MiSeq Reporter).

Broj dokumenta	Datum	Opis promjene
Broj dijela 15027617 Rev. D	Srpanj 2012.	<p>Ažurirani su opisi softvera u skladu s verzijom MCS v2.0. Dodane su sljedeće nove informacije:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dodan je odjeljak pod naslovom <i>Novo u MCS-u</i>, u kojem se opisuju nove značajke softvera, promjene korisničkog sučelja te promjene tijekom rada. • Dodan je kataloški broj i opis kompleta reagensa MiSeq v2 za 500 ciklusa. • Dodan je odjeljak Kompatibilnost verzija i preduvjeti. • Dodan je opisa paketa proširenja sustava MiSeq, koji je potreban za snimanje protočnog članka s 14 pločica i dvije površine. • Dodan je opis brojeva pločica za protočni članak s dvije površine. • Dodan je tijekom rada PCR Amplicon za biblioteke Nextera XT. • Dodane su informacije o upotrebi 10-postotnog sredstva Tween 20 u postupcima ispiranja i o očekivanim volumenima ispiranja. • U postupak u slučaju neuspješnog očitavanja RFID-a dodana je verzija spremnika reagensa. <p>Ažurirane su sljedeće informacije:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Promijenjeni su akronimi reagensa za IMF, CMF i AMX u nazive reagensa v2 IMS, CMS odnosno AMS. • Promijenjena je koncentracija PhiX kontrole iz 8 pM u 12,5 pM. • Promijenjena je maksimalna preporučena koncentracija NaOH u konačnoj otopini u 1 mM. • Dodana je napomena da je ispiranje radi održavanja obavezno prije aktiviranja instrumenta iz stanja mirovanja i započinjanja koraka postavljanja za sljedeću obradu. • Uklonjen je odjeljak Parametri lista s uzorcima i korak za postavljanje lista s uzorcima u tijeku rada; Illumina preporučuje da se list s uzorcima pripremi prije uzoraka (pročitajte dokumente <i>MiSeq Sample Sheet Quick Reference Guide</i> (Kratki referentni priručnik za listove s uzorcima sustava MiSeq), broj dijela 15028392 i <i>Illumina Experiment Manager User Guide</i> (Korisnički priručnik za Illumina Experiment Manager), broj dijela 15031335).

Broj dokumenta	Datum	Opis promjene
Broj dijela 15027617 Rev. C	Travanj 2012.	<p>Ažurirani su opisi softvera u skladu s verzijom MCS v1.2. Dodani su sljedeći novi postupci i odjeljci: Pregled sustava BaseSpace, Upotreba prilagođenih otopina za pripremu, Generiranje FASTQ datoteka, Otklanjanje poteškoća zbog pogreške protoka, Testiranje volumena, Provođenje ispiranja radi održavanja i Priprema instrumenta za neaktivnost, koja obuhvaća ispiranje u stanju mirovanja.</p> <p>Ažurirane su sljedeće informacije:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ažuriran je naziv tijeka rada Amplicon u Custom Amplicon; ažuriran je naziv tijeka rada DenovoAssembly u Assembly; dodan je tijek rada GenerateFASTQ. • Dodani su opisi mapa i datoteka obrade; ažurirani su nazivi mapa obrade; dodana je veličina izlaznih datoteka. • Mapa za genome navedena je kao obavezna za sekvenciranje Amplicon u odjeljku Parametri lista s uzorcima. • Dodane su upute za razrjeđivanje NaOH radi denaturiranja biblioteka. • Ažuriran je odjeljak Otklanjanje pogreške zbog neuspješnog očitavanja RFID-a uputama za MiSeq Self-Service (Samoposlužne usluge za MiSeq). • Navedene su datoteke i mape koje se upotrebljavaju za otklanjanje poteškoća s performansama obrade.
Broj dijela 15027617 Rev. B	Prosinac 2011.	<p>Ažurirani su opisi softvera u skladu s verzijom MCS v1.1. Dodane su informacije o antivirusnoj zaštiti.</p> <p>Ažurirane su sljedeće informacije:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Upute za rješavanje pogreške RFID-a. • Priprema biblioteka – promijenjeno u NaOH 0,2 N. • Konvencija dodjele naziva mapama obrade. • Potreban prostor na disku i kapacitet pohrane. • Koraci za postavljanje obrade – dodano više informacija u odjeljak Postavljanje lista s uzorcima. • Koraci za postavljanje obrade – dodana napomena o bacanju ostatka PR2 u otpad. • Trajanje analize – dodane informacije kad je analiza dulja od dva sata. • Ulazni preduvjeti za analizu – datoteke manifesta navedene su kao obavezne za biblioteke TruSeq Custom Amplicon. • Ispravljena je veličina epruvete HT1 u odjeljku Sadržaj kompleta reagensa MiSeq. • Reference na iCom promijenjene su u Myllumina.
Broj dijela 15027617 Rev. A	Rujan 2011.	Početno izdanje

Sadržaj

Poglavlje 1 Pregled	1
Uvod	1
Dodatni resursi	1
Komponente	2
Koncepti instrumenta MiSeq	5
Sistemska softver	5
Mogućnosti sekundarne analize	7
Sequencing Analysis Viewer	8
Potreban prostor na disku	9
Pregled kompleta reagensa MiSeq	9
Poglavlje 2 Početak rada	13
Pokretanje sustava MiSeq	13
Prilagodba postavki sustava	13
Konfiguriranje obavijesti o ažuriranjima sustava BaseSpace	14
Postavljanje preferencija za e-poštu	14
Postavljanje zadanih lokacija mapa	15
Potrošni materijal koji mora pribaviti korisnik	15
Poglavlje 3 Sekvenciranje	17
Uvod	17
Trajanje obrade	17
Tijek rada MiSeq	19
Otapanje spremnika reagensa	20
Provjera spremnika reagensa	21
Denaturiranje i razrjeđivanje biblioteka	21
Umetanje biblioteka uzoraka	21
Postavljanje obrade s pomoću MCS-a	22
Čišćenje protočnog članka	24
Umetanje protočnog članka	25
Umetanje reagensa	27
Pokretanje obrade	28
Nadzor obrade	29
Provođenje ispiranja nakon obrade	31
Poglavlje 4 Održavanje	37
Učestalost održavanja	37
Učestalost održavanja za tijek rada VeriSeq PGS	37
Provođenje ispiranja radi održavanja	38
Provođenje ispiranja u stanju mirovanja	40
Upravljanje datotekama	42
Ažuriranja softvera	43
Isključivanje instrumenta	44

Dodatak A Otklanjanje poteškoća	45
Uvod	45
Grupiranje zapisnika radi otklanjanja poteškoća	45
Provođenje provjere sustava	46
Pauziranje ili zaustavljanje obrade	47
Ručno podizanje dozatora sa spremnika reagensa	48
Otklanjanje pogrešaka u postavljanju obrade	48
Otklanjanje pogreške zbog neuspješnog očitavanja RFID-a	49
Testiranje volumena	49
Mjerenje očekivanih volumena ispiranja	50
Rješavanje pogrešaka s temperaturom hladnjaka reagensa	50
Rješavanje pogrešaka analize softvera Local Run Manager	51
Konfiguracija postavki sustava	51
Dodatak B Izlazne datoteke i mape	53
Mape obrade	53
Sadržaj mape MiSeqOutput	53
Mape i datoteke za RTA	55
Kazalo	57
Tehnička pomoć	61

Poglavlje 1 Pregled

Uvod	1
Dodatni resursi	1
Komponente	2
Koncepti instrumenta MiSeq	5
Sistemske softver	5
Mogućnosti sekundarne analize	7
Sequencing Analysis Viewer	8
Potreban prostor na disku	9
Pregled kompleta reagensa MiSeq	9

Uvod

Sustav Illumina® MiSeq™ objedinjuje dokazanu tehnologiju sekvenciranja sintezom (eng. sequencing by synthesis, SBS) i revolucionarni tijek rada koji omogućuje pribavljanje podataka analize DNK-a već za osam sati. MiSeq integrira generiranje klastera, sekvenciranje i analizu podataka u jedan instrument.

Značajke

- ▶ **Nenadzirana automatizacija** – kad postavite obradu, što obuhvaća umetanje unaprijed napunjenog spremnika reagensa, boce s puferom te protočnog članka, više nije potrebna prisutnost uz instrument.
- ▶ **Unaprijed napunjeni spremnik reagensa** – posebno dizajnirani, jednokratni, unaprijed napunjeni spremnik reagensa sadrži reagens za generiranje klastera i sekvenciranje, uključujući reagens za sekvenciranje uparenih krajeva i reagens za indeksiranje. Integrirano praćenje putem radiofrekvencijske identifikacije (RFID-a) omogućuje precizno praćenje potrošnog materijala.
- ▶ **Kontrole na korisničkom sučelju** – na sučelju softvera MiSeq Control Software (MCS) nalaze se kontrole za konfiguriranje instrumenta, postavljanje i nadzor obrada te za obavljanje postupaka održavanja.
- ▶ **Praktično umetanje protočnog članka** – mehanizam s hvataljkama automatski postavlja protočni članak na mjesto prilikom umetanja na instrument. Integrirano praćenje putem radiofrekvencijske identifikacije (RFID-a) omogućuje precizno praćenje potrošnog materijala.
- ▶ **Inovativna arhitektura za fluide** – sustav fluida MiSeq omogućuje dosad najbrži ciklus kemijske analize tijekom sekvenciranja.
- ▶ **Analiza u stvarnom vremenu (eng. Real-time analysis, RTA)** – integrirani softver za analizu u stvarnom vremenu tijekom postupka sekvenciranja analizira podatke na instrumentu, uključujući analizu slika i određivanje očitanih baza, te tako štedi vrijedno vrijeme za analizu.
- ▶ **Local Run Manager** – integrirani softver za sekundarnu analizu obrađuje podatke analize RTA-a radi usklađivanja i prikaza informacija o svakom analiziranom uzorku.

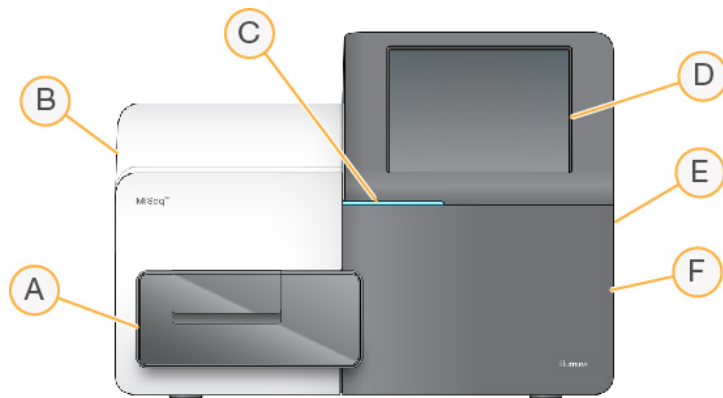
Dodatni resursi

Dodatni se resursi mogu pronaći na [stranicama podrške za sustav MiSeq](#) na web-mjestu Illumina. Ti resursi obuhvaćaju softver, obuku, kompatibilne proizvode i sljedeću dokumentaciju. Na stranicama podrške obavezno provjeravajte ima li novijih verzija.

Resurs	Opis
<i>MiSeq System Site Prep Guide (Priručnik za pripremu lokacije sustava MiSeq, broj dokumenta 15027615)</i>	Sadrži specifikacije laboratorijskog prostora, potrebne specifikacije električne mreže i mjere zaštite okoliša.
<i>MiSeq System Safety and Compliance Guide (Priručnik za sigurnost i sukladnost za sustav MiSeq, broj dokumenta 15027616)</i>	Sadrži informacije o oznakama na instrumentu, certifikatima o sukladnosti i sigurnosnim mjerama.
<i>illumina Experiment Manager User Guide (Korisnički priručnik za illumina Experiment Manager, broj dokumenta 15031335)</i>	Sadrži upute za stvaranje pločica za uzorke i listova s uzorcima za različite tijekove rada i vrste biblioteka.
<i>BlueFuse Workflow Manager User Guide (Korisnički priručnik za BlueFuse Workflow Manager, broj dokumenta 1000000028842)</i>	Sadrži upute za stvaranje pločica za uzorke i listova s uzorcima za tijekom rada VeriSeq PGS.
<i>MiSeq Sample Sheet Quick Reference Guide (Kratki referentni priručnik za listove s uzorcima sustava MiSeq, broj dokumenta 15028392)</i>	Sadrži informacije o dodavanju postavki lista s uzorcima na list s uzorcima.
<i>MiSeq System Denature and Dilute Libraries Guide (Priručnik za denaturiranje i razrjeđivanje biblioteka za sustav MiSeq, broj dokumenta 15039740)</i>	Sadrži upute za denaturiranje i razrjeđivanje pripremljenih biblioteka uzoraka prije sekvenciranja na instrumentu MiSeq te za pripremu PhiX kontrole. Taj se korak odnosi na većinu vrsta biblioteka.
<i>MiSeq Reporter Software Guide (Priručnik za softver MiSeq Reporter, broj dokumenta 15041638)</i>	Sadrži upute za pripremu i umetanje prilagođenih otopina za pripremu te za uređivanje lista s uzorcima za prilagođene otopine za pripremu.
<i>Local Run Manager Software Guide (Priručnik za upotrebu softvera Local Run Manager, broj dokumenta 100000002702)</i>	U njemu je naveden pregled softvera Local Run Manager, upute za korištenje značajki softvera te upute za instalaciju modula za analizu na računalu instrumenta.
<i>BlueFuse Multi Software Guide (Priručnik za softver BlueFuse Multi, broj dokumenta 15053620)</i>	Daje sveobuhvatni pregled postupaka analize, tijekova rada za analizu te datoteka koje BlueFuse Multi generira, a sadrži i računalne preduvjete te informacije o otklanjanju poteškoća. Taj priručnik upotrebljavajte uz tijekom rada VeriSeq PGS.
<i>BaseSpace User Guide (Korisnički priručnik za BaseSpace, broj dokumenta 15044182)</i>	Sadrži upute za upotrebu sustava BaseSpace te opise grafikona koji se generiraju za svaki tijek rada za analizu.
<i>BaseSpace Onsite System User Guide (Korisnički priručnik za sustav BaseSpace Onsite, broj dokumenta 15049148)</i>	Sadrži upute za upotrebu sustava BaseSpace Onsite.

Komponente

MiSeq sastoji se od monitora s dodirnim zaslonom, trake statusa, tipke za uključivanje s pridruženim USB priključcima te tri odjeljka.



- A **Odjeljak za protočni članak** – sadrži nosač protočnog članka na kojem se tijekom cijele obrade nalazi protočni članak. Motori nosača protočnog članka pomiču nosač iz zatvorenog optičkog modula radi umetanja protočnog članka te vraćaju nosač kad započne obrada.
- B **Zatvoreni optički odjeljak** – sadrži optičke komponente koje omogućuju snimanje protočnog članka.
- C **Traka statusa** – označava status protočnog članka kao spreman za sekvenciranje (zeleni), u obradi (plavi) ili traži pozornost korisnika (narančasti).
- D **Monitor s dodirnim zaslonom** – prikazuje sučelje kontrolnog softvera za konfiguraciju sustava i postavljanje obrade.
- E **Vanjski USB priključci** – omogućuju prijenos datoteka i podataka na računalo instrumenta s monitora dodirnog zaslona.
- F **Odjeljak za reagense** – sadrži reagense na odgovarajućim temperaturama, otopine za ispiranje i bocu za iskorištene reagense. Vratašca odjeljka za reagense zatvaraju se putem magnetske brave.

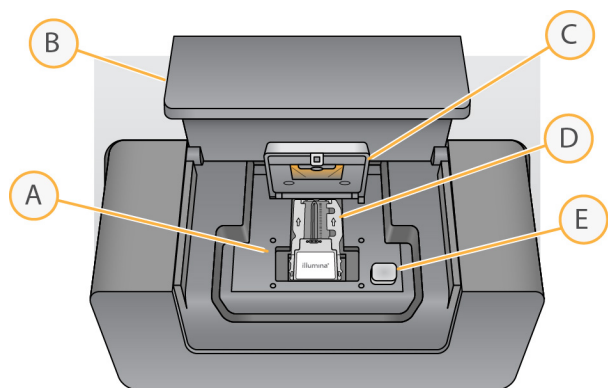
Korisničko sučelje instrumenta MiSeq vodi vas kroz korake za postavljanje obrade putem monitora dodirnog zaslona. Za umetanje komponenti za obradu potreban je pristup odjeljku za reagense i odjeljku za protočni članak.

Odjeljak za protočni članak

U odjeljku za protočni članak nalaze se nosač protočnog članka, toplinska stanica te priključci za povezivanje sustava fluida s protočnim člankom. Na nosaču protočnog članka nalazi se protočni članak, a stezaljka protočnog članka drži protočni članak na mjestu. Kad se zatvori stezaljka protočnog članka, dvije iglice u blizini šarke stezaljke automatski namještaju protočni članak.

Toplinska stanica, koja se nalazi ispod nosača protočnog članka, kontrolira promjene temperature protočnog članka koje su potrebne za generiranje klastera i sekvenciranje.

SI. 1 Odjeljak za protočni članak



- A Nosač protočnog članka
- B Vrtašca odjeljka za protočni članak
- C Stezaljka protočnog članka
- D Protočni članak
- E Tipka za otvaranje stezaljke protočnog članka

Odjeljak za reagense

U odjeljku za reagense nalaze se hladnjak reagensa te mjesta za bocu s puferom za ispiranje (PR2) te bocu za otpad. Da biste održavali istu temperaturu, hladnjak reagensa otvarajte i zatvarajte samo kad za to dobijete uputu.



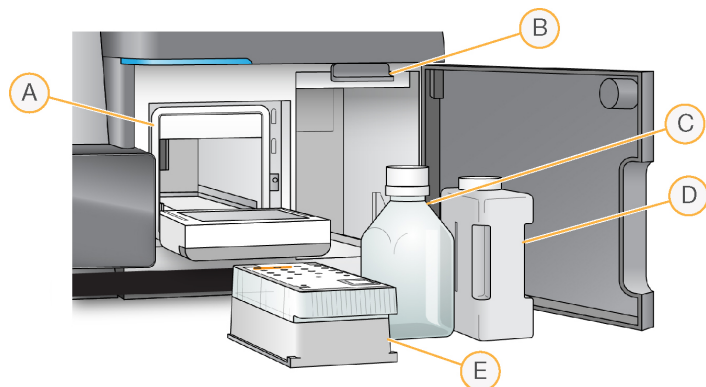
NAPOMENA

Potrebni je temperaturni raspon hladnjaka reagensa 2 °C do 11 °C.

Tijekom obrade u hladnjaku reagensa nalazi se jednokratni spremnik reagensa. Tijekom ispiranja instrumenta u hladnjaku reagensa nalazi se plitica za ispiranje. Softver automatski spušta dozatore u svaki bazen spremnika reagensa u određeno vrijeme tijekom obrade, ovisno o postupku koji se provodi.

Desno od hladnjaka reagensa nalaze se oblikovani utori za bocu PR2 i bocu za otpad. Ručkom dozatora boce se blokiraju na mjestu te se u svaku bocu spušta odgovarajući dozator. Reagensi se pumpaju kroz dozatore i vodove za fluide, a potom na protočni članak. Tijekom cijelog postupka otpadni reagens provodi se u bocu za otpad.

SI. 2 Komponente odjeljka za reagense



- A Hladnjak reagensa
- B Ručka dozatora (prikazana u podignutom položaju)
- C Boca PR2
- D Boca za otpad
- E Spremnik reagensa

Koncepti instrumenta MiSeq

Sljedeći se koncepti i pojmovi često upotrebljavaju u koracima za postavljanje obrade na instrumentu MiSeq.

Koncept	Opis
Tijek rada za analizu	Postupak sekundarne analize provodi se putem softvera Local Run Manager. Tijek rada za svaku obradu određen je na listu s uzorcima ili u odabranom modulu.
Manifest	Datoteka u kojoj se određuju referentni genom i ciljana referentna područja koja će se upotrebljavati u koraku usklađivanja. Za tijekove rada za koje je potreban manifest datoteka manifesta navodi se na listu s uzorcima te se kopira u mapu manifesta koja je određena u MCS-u. Datoteke manifesta mogu se učitati u softveru Local Run Manager i radi korištenja tijekom sekundarne analize.
Referentni genom	Datoteka u obliku FASTA koja sadrži sekvence genoma koje se upotrebljavaju tijekom analize. Datoteka referentnog genoma za većinu je tijekom rada za analizu navedena na listu s uzorcima.
Mapa obrade	Struktura mapa koju popunjava softver RTA (mapa MiSeqOutput) ili mapa koju popunjava Local Run Manager (MiSeqAnalysis). Dodatne informacije potražite u odjeljku <i>Mape obrade na stranici 53</i> .
List s uzorcima	Datoteka u kojoj su vrijednosti razdvojene zarezom (*.csv) s informacijama koje služe za postavljanje i analiziranje postupka sekvenciranja, uključujući popis uzoraka te njihove sekvence indeksa. List s uzorcima može se navesti u koracima za postavljanje obrade na sustavu MiSeq. Nakon pokretanja obrade naziv lista s uzorcima mijenja se u SampleSheet.csv te se kopira u mape obrade: MiSeqTemp, MiSeqOutput i MiSeqAnalysis.

Dodatne informacije o tijekovima rada za analizu i oblicima datoteka manifesta potražite u dokumentu *Local Run Manager Software Guide (Priručnik za upotrebu softvera Local Run Manager, broj dokumenta 100000002702)*.

Dodatne informacije o listovima s uzorcima potražite u dokumentu *MiSeq Sample Sheet Quick Reference Guide (Kratki referentni priručnik za listove s uzorcima sustava MiSeq, broj dokumenta 15028392)*.

Sistemska softver

Softverski paket instrumenta obuhvaća integrirane aplikacije koje obavljaju postupke sekvenciranja, analizu na instrumentu i druge povezane funkcije.

- ▶ **MiSeq Control Software (MCS)** – upravlja radom instrumenta. Korisničko sučelje softvera MiSeq Control Software (MCS) vodi vas kroz korake umetanja protočnog članka i reagensa prije započinjanja obrade. Tijekom postupka obrade prikazuje se pregled statistike kvalitete.
- ▶ MCS tijekom obrade pomiče nosač protočnog članka, dozira reagense, kontrolira temperature protočnog članka te na protočnom članku snima slike klastera. MCS provodi obradu u skladu s parametrima navedenima u softveru Local Run Manager.
- ▶ **Softver za analizu u stvarnom vremenu (RTA)** – analizira slike i određuje očitane baze te svakoj bazi za svaki ciklus dodjeljuje ocjenu kvalitete. Slike se privremeno pohranjuju u mapu obrade da bi ih RTA mogao obraditi, a potom se, nakon što RTA dovrši analizu, automatski brišu.

- ▶ **Local Run Manager** – rješenje integrirano na instrumentu korišteno je za stvaranje obrade, nadzor stanja, analizu podataka u nizu i prikaz rezultata. Local Run Manager ujedno prati informacije o uzorku i upravlja dozvolama korisnika. Softver se pokreće kao servis sustava Windows na računalu s instrumentom te se prikazuje putem web-preglednika. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Softver Local Run Manager na stranici 8*.





Dodatni softver koji se može upotrebljavati izvan instrumenta jest Sequencing Analysis Viewer (SAV). Dodatne informacije potražite u odjeljku *Sequencing Analysis Viewer na stranici 8*.

Ikone statusa

Ikona statusa u kontrolnom sučelju softvera označava promjenu uvjeta tijekom postavljanja ili izvođenja. Broj na ikoni označava boj stanja za status.

Kada se promijeni status izvođenja, ikona treperi da bi vas upozorila na to. Odaberite ikonu da bi vam se prikazao opis stanja. Odaberite **Acknowledge** (Prihvati) da biste izbrisali poruku, a zatim **Close** (Zatvori) da biste zatvorili dijaloški okvir.

Vrste poruka koje se prikazuju u prozoru statusa filtrirajte tako da odaberete ikone pri vrhu prozora. Odabirom ikone uključuje se odnosno skriva prikaz određenog stanja.

Ikona statusa	Naziv statusa	Opis
	U redu	Nema promjene. Sustav radi normalno.
	Pozor	Važna informacija. Preporučuje se neka radnja.
	Upozorenje	Upozorenja ne zaustavljaju obradu. No na neka je upozorenja potrebno reagirati da bi se mogla nastaviti obrada.
	Pogreška	Pogreške najčešće zaustavljaju obradu te je uglavnom potrebno nešto poduzeti da bi se mogla nastaviti obrada.

Pokazatelji aktivnosti

Ikona indikatora aktivnosti prikazuje aktivnost koju instrument trenutno obavlja.

SI. 3 Pokazatelji aktivnosti



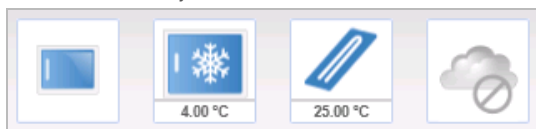
Pokazatelji aktivnosti slijeva udesno predstavljaju sljedeće aktivnosti:

- ▶ pomicanje nosača Y
- ▶ pomicanje nosača Z
- ▶ aktiviranje elektroničkih funkcija
- ▶ upotreba kamere
- ▶ pumpanje kroz sustav fluida

Pokazatelji senzora

Pokazatelji senzora, koji se nalaze pri dnu svakog zaslona korisničkog sučelja, prikazuju status komponenti instrumenta.

SI. 4 Pokazatelji senzora



Pokazatelji senzora slijeva udesno predstavljaju sljedeće komponente:

- ▶ vratašca odjeljka za protočni članak u zatvorenom odnosno otvorenom položaju
- ▶ temperatura hladnjaka reagensa u °C
- ▶ temperatura protočnog članka u °C
- ▶ status veze sa sustavom BaseSpace® (prikazano je da sustav nije povezan)

Mogućnosti sekundarne analize

Podaci sekvenciranja na instrumentu MiSeq mogu se analizirati na računalu instrumenta pomoću softvera Local Run Manager, na umreženom poslužitelju pomoću sustava BaseSpace Onsite™ ili u oblaku pomoću sustava BaseSpace. Te aplikacije daju informacije o usklađenju, varijantama i sastavljenim kontigama za svaki uzorak iz obrade s većim brojem uzoraka. Ako provodite tijekom rada VeriSeq™ PGS, za analizu upotrijebite softver BlueFuse Multi™.

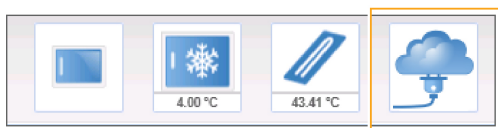
Pregled sustava BaseSpace i BaseSpace Onsite

BaseSpace je računalno okruženje u oblaku tvrtke Illumina. BaseSpace Onsite računalno je okruženje na namjenskom poslužitelju koje sadrži alate za postavljanje obrade i mogućnosti za analizu.

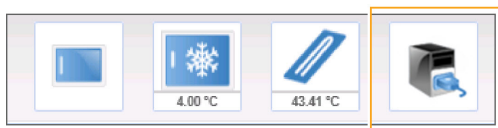
Prilikom postavljanja postupka sekvenciranja prijavite se u BaseSpace ili BaseSpace Onsite. Ako upotrebljavate BaseSpace ili BaseSpace Onsite, na raspolaganju vam je dodatna mogućnost lokalnog pohranjivanja podataka o obradi. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Prilagodba postavki sustava na stranici 13*.

Kada pokrenete postupak sekvenciranja, ikona će se promijeniti i označiti da je MiSeq povezan sa sustavom BaseSpace ili BaseSpace Onsite te da se podatkovne datoteke prenose na navedenu lokaciju.

SI. 5 Ikona koja označava uspostavljenu vezu sa sustavom BaseSpace



SI. 6 Ikona koja označava uspostavljenu vezu sa sustavom BaseSpace Onsite



Ako upotrebljavate BaseSpace, podatkovne datoteke šifriraju se tijekom prijenosa, dešifriraju tijekom analize, a potom ponovno šifriraju prilikom pohrane. Ako upotrebljavate BaseSpace Onsite, podatkovne datoteke šifriraju se tijekom prijenosa, dešifriraju tijekom analize te imate mogućnost ponovno ih šifrirati prilikom pohrane.

Na kraju obrade ili nakon dovršenja prijenosa svih datoteka za analizu softvera RTA, automatski se prekida veza sustava BaseSpace odnosno BaseSpace Onsite s instrumentom MiSeq. Ako se prekine internetska veza, prijenos datoteka analize od mjesta prekida nastaviti će se kad se veza ponovno uspostavi.

Čim se u BaseSpace odnosno BaseSpace Onsite prenese posljednja datoteka očitanih baza, započinje sekundarna analiza podataka. BaseSpace i BaseSpace Onsite podržavaju iste tijekove rada za analizu kao i analiza na instrumentu putem softvera Local Run Manager.

Sa sustavom BaseSpace možete se povezati na adresi basespace.illumina.com. Prijavite se s pomoću vjerodajnica za račun za Myllumina. Dodatne informacije o sustavu BaseSpace potražite u dokumentu *BaseSpace User Guide (Korisnički priručnik za BaseSpace, broj dokumenta 15044182)* i na stranicama s podrškom za BaseSpace na web-mjestu tvrtke Illumina.

Dodatne informacije o sustavu BaseSpace Onsite potražite u dokumentu *BaseSpace Onsite System Guide (Vodič za sustav BaseSpace Onsite, broj dokumenta 15049148)* i na stranicama s podrškom za BaseSpace OnSite na web-mjestu tvrtke Illumina.

Softver Local Run Manager

Softver Local Run Manager rješenje je integrirano na instrumentu korišteno za stvaranje obrade, nadzor stanja, analizu podataka i prikaz rezultata. Softver se integrira s MCS-om i obrađuje očitane baze generirane tijekom prvotne analize. Local Run Manager automatski provodi sekundarne analize nakon dovršetka obrade sekvenciranja.

Local Run Manager koristi se za snimanje informacija o uzorku tijekom pripreme biblioteke te osigurava praćenje pozitivnih uzoraka tijekom postupka i pri tome daje informacije o svakom uzorku.

Osim toga, Local Run Manager može kontrolirati provjeru autentičnosti korisnika (ako je omogućena), čime korisnicima dodjeljuje dozvole različitih razina. Dozvole se spremaju u datoteke baze podatka, koje MiSeq koristi kao referencu. Local Run Manager može i nadzirati obradu sekvenciranja. Dodatne informacije potražite u dokumentu *Local Run Manager Software Guide (Priručnik za upotrebu softvera Local Run Manager, broj dokumenta 100000002702)*.

Sekvenciranje tijekom analize

Računalni resursi sustava MiSeq upotrebljavaju se ili za sekvenciranje ili za analizu.

Ako koristite Local Run Manager i u softveru MiSeq pokrenete novu obradu sekvenciranja prije dovršetka sekundarne analize ranije obrade, pojaviti će se dijaloški okvir za potvrdu. Nakon što potvrdite da želite pokretanje nove obrade sekvenciranja, sekundarna će se analiza ranije obrade zaustaviti sve dok se ne dovrši sekvenciranje nove obrade.

Kada novi postupak završi sekvenciranje, sekundarna analiza prethodnog postupka automatski započinje od početka.

Sequencing Analysis Viewer

Obradu detaljnije možete nadzirati bez ometanja putem preglednika Illumina Sequencing Analysis Viewer (SAV-a). Da bi se putem SAV-a prikazali rezultati primarne analize, MiSeq mora biti umrežen.

SAV omogućuje pregled metričkih podataka tijekom obrade kako se ti podaci generiraju te nakon dovršetka obrade. SAV instalirajte na računalo koje je nezavisno od instrumenta MiSeq, ali ima pristup istoj mreži s kojom je povezan i instrument. Nakon pokretanja softvera otvorite izlaznu mapu obrade.

Nakon generiranja predložaka SAV prikazuje metričke podatke koje generira RTA te ih organizira u grafičke prikaze, grafikone i tablice.



NAPOMENA

SAV je univerzalni softver za sustave za sekvenciranje tvrtke Illumina, a na većini njih upotrebljava se protočni članak sa 8 kanala. Neki prikazi sadrže padajuće popise za prikaz kanala 1 – 8. Budući da je na protočnom članku instrumenta MiSeq samo jedan kanal, odaberite **All (Sve)** ili **Lane 1 (Kanal 1)**. Dodatne informacije potražite u dokumentu *Sequencing Analysis Viewer User Guide (Korisnički priručnik za Sequencing Analysis Viewer, broj dokumenta: 15020619)*.

Potreban prostor na disku

Računalo integrirano s instrumentom ima kapacitet prostora za pohranu od otprilike 550 GB.

Softver prije pokretanja obrade provjerava slobodan prostor na disku. Ako nema dovoljno prostora na disku za postupak, prikazuje se poruka u kojoj piše koliko je potrebno prostora.

Ako se prikaže upit za oslobađanje prostora na disku, premjestite ili izbrišite starije mape obrada, ovisno o tome što je primjereno. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Upravljanje datotekama na stranici 42*. Nakon što oslobodite dovoljno prostora na disku, odaberite **Restart Check** (Ponovno pokreni provjeru).

Pregled kompleta reagensa MiSeq

Komplet reagensa MiSeq komplet je jednokratnih reagensa potreban za izvođenje sekvenciranja. Dostupan je u raznim vrstama i veličinama. Svaka vrsta kompleta reagensa MiSeq obuhvaća vrstu protočnog članka specifičnu za komplet te sve reagense koji su potrebni za obradu.

Za protočni članak, bocu PR2 i spremnik reagensa koji se nalaze u kompletu upotrebljava se radiofrekvencijska identifikacija (RFID) radi preciznog praćenja potrošnje i kompatibilnosti potrošnih materijala.

Obavezno upotrebljavajte spremnik reagensa koji je povezan s odabranom vrstom protočnog članka. Ako spremnik reagensa nije kompatibilan, tijekom postavljanja obrade prikazat će se poruka u kojoj se traži umetanje kompatibilnog spremnika reagensa.

Opis dostupnih kompleta reagensa potražite na [stranicu proizvođača komplet reagensa MiSeq](#) na web-mjestu Illumina.

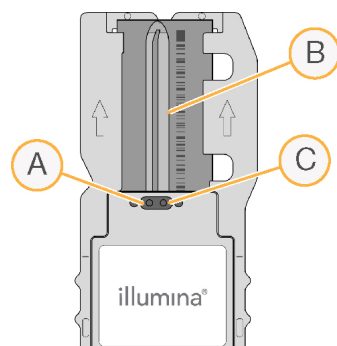
Protočni članak

Protočni članak MiSeq jednokratni je stakleni supstrat na kojem se generiraju klasteri i provodi reakcija sekvenciranja.

Reagensi kroz ulazni priključak ulaze u protočni članak, prolaze kroz jednokanalno područje snimanja, a potom izlaze iz protočnog članka kroz izlazni priključak. Otpad koji izlazi iz protočnog članka, dovodi se do boce za otpad.

Biblioteke se prije postavljanja obrade nanose na spremnik reagensa te se s početkom obrade automatski prenose na protočni članak.

SI. 7 Protočni članak MiSeq



- A Izlazni priključak
- B Područje snimanja
- C Ulazni priključak

Boja čepa protočnog članka

Boja čepa protočnog članka označava vrstu protočnog članka:

Protočni članak	Boja čepa protočnog članka
Standardni protočni članak Protočni članak PGS	Prozirna
Mikro protočni članak	Zelena
Nano protočni članak	Žuta

Pregled spremnika reagensa

Spremnik reagensa MiSeq jednokratni je potrošni materijal koji se sastoji od bazena zatvorenih folijom koji su unaprijed napunjeni reagensima za klasteriranje i sekvenciranje u količini dovoljnoj za sekvenciranje jednog protočnog članka.

Svi bazeni na spremniku numerirani su. Biblioteke uzoraka umeću se na spremnik na položaj 17, koji nosi oznaku **Load Samples** (Umetnite uzorke).

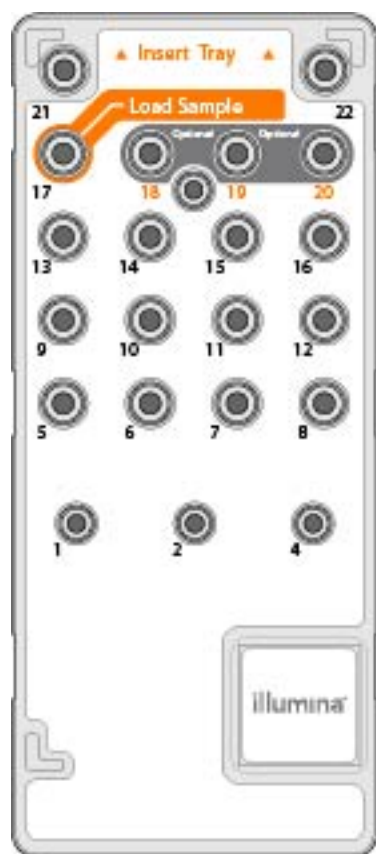


UPOZORENJE

Taj skup reagensa sadrži potencijalno opasne kemikalije. Uslijed udisanja, gutanja, dodira s kožom i dodira s očima može doći do ozljeda. Nosite zaštitnu opremu, uključujući zaštitu za oči, rukavice i laboratorijsku kantu prikladnu za rizik od izlaganja. Iskorištenim reagensima rukujte kao kemijskim otpadom i zbrinite ih u skladu odgovarajućim regionalnim, nacionalnim i mjesnim zakonima i propisima. Dodatne informacije o zaštiti okoliša, zdravlja i sigurnosti potražite u sigurnosno-tehničkom listu na adresi support.illumina.com/sds.html.

Rezervirani bazeni

Sl. 8 Spremnik reagensa s numeriranim bazenima



Tbl. 1 Bazeni spremnika reagensa

Položaj	Naziv reagensa	Opis
8	LDR	Reagens za denaturaciju (sadrži formamid)
17	Rezervirano	Load Sample (Umetnite uzorak, rezervirano za biblioteke uzoraka)
18	Rezervirano	Rezervirano za prilagođenu otopinu za pripremu za očitavanje 1 [neobavezno]
19	Rezervirano	Rezervirano za prilagođenu otopinu za pripremu za očitavanje indeksa [neobavezno]
20	Rezervirano	Rezervirano za prilagođenu otopinu za pripremu za očitavanje 2 [neobavezno]

**NAPOMENA**

Dodatne informacije o upotrebi prilagođenih otopina za pripremu u spremniku reagensa MiSeq potražite u dokumentu *MiSeq Custom Primers Guide (Priručnik za prilagođene otopine za pripremu na instrumentu MiSeq, broj dokumenta 15041638)*.

Poglavlje 2 Početak rada

Pokretanje sustava MiSeq	13
Prilagodba postavki sustava	13
Konfiguriranje obavijesti o ažuriranjima sustava BaseSpace	14
Postavljanje preferencija za e-poštu	14
Postavljanje zadanih lokacija mapa	15
Potrošni materijal koji mora pribaviti korisnik	15

Pokretanje sustava MiSeq

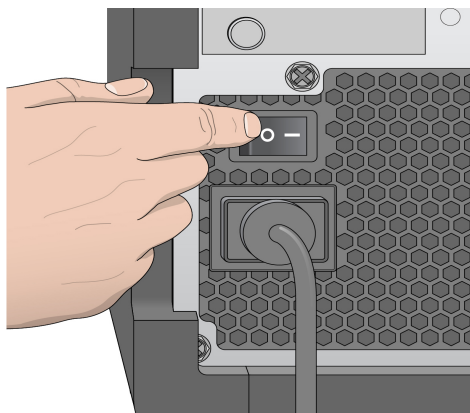
- 1 Postavite prekidač na poledini instrumenta u položaj | (uključeno).



NAPOMENA

Da bi imao najbolje performanse, instrument nemojte isključivati. No ako morate isključiti instrument, pročitajte odjeljak *Isključivanje instrumenta na stranici 44*. Pričekajte **najmanje** 60 sekundi prije nego što prekidač napajanja vratite u položaj ON (Uključeno)

SI. 9 Položaj prekidača napajanja



- 2 Pričekajte da se sustav učita, a zatim se prijavite u operacijski sustav. Po potrebi zatražite korisničko ime i lozinku od administratora ustanove.
Kad se operacijski sustav učita, pokrenut će se MiSeq Control Software (MCS) te automatski inicijalizirati sustav.
- 3 Ako koristite Local Run Manager i omogućeno je upravljanje korisnicima, prijavite se pomoću korisničkog imena i lozinke za Local Run Manager te odaberite **Next** (Dalje).

Prilagodba postavki sustava

- 1 Na početnom zaslonu odaberite **Run Options** (Mogućnosti obrade).
- 2 Odaberite karticu **Run Settings** (Postavke obrade).
- 3 Odaberite **Post Run Wash** (Ispiranje nakon obrade) ili **Maintenance Wash** (Ispiranje radi održavanja).
Nakon svake se obrade obavezno mora isprati instrument. Softver neće dopustiti postavljanje sljedeće obrade dok se ne obavi ispiranje. Mogućnošću ispiranja nakon obrade određuje se kakvo će se ispiranje obavljati po zadanom. Ispiranje nakon obrade traje približno 30 minuta. Ispiranje radi održavanja traje približno 1 sat.

- 4 **[Neobavezno]** Odaberite **Start run after pre-run check. Do not prompt for confirmation.** (Započni obradu nakon provjere prije obrade. Nemoj tražiti potvrdu.) da biste automatski pokrenuli obradu.
- 5 Na kartici **BaseSpace Settings** (Postavke za BaseSpace) unesite adresu na lokaciji poslužitelja u oblaku ili lokalnog poslužitelja.
Postavka Onsite Server (Poslužitelj za BaseSpace Onsite) obavezna je ako upotrebljavate BaseSpace Onsite.
- 6 Da biste omogućili servis za praćenje Illumina Proactive, odaberite **Send instrument Performance Data to Illumina to aid technical support** (Slanje podataka o radu instrumenta tvrtki Illumina radi pomoći tehničkoj podršci). Naziv postavke u sučelju softvera može se razlikovati od naziva u ovom priručniku, što ovisi o verziji MCS-a koja se koristi.
Dok je ta postavka uključena, podaci o radu instrumenta šalju se tvrtki Illumina. Na temelju tih podataka Illumina lakše otklanja poteškoće i prepoznaje potencijalne pogreške, što omogućuje proaktivno održavanje i minimiziranje praznog hoda instrumenta. Dodatne informacije o prednostima tog servisa, potražite u dokumentu *Illumina Proactive Technical Note (Tehnička napomena o servisu Illumina Proactive, broj dokumenta 1000000052503)*.
Taj servis:
 - ▶ ne šalje podatke o sekvenciranju
 - ▶ zahtijeva vezu instrumenta s mrežom koja ima pristup internetu
 - ▶ po zadanom je uključen. Da biste prestali koristiti taj servis, onemogućite postavku **Send Instrument Performance Data to Illumina to aid technical support** (Slanje podataka o radu instrumenta tvrtki Illumina radi pomoći tehničkoj podršci).

Konfiguriranje obavijesti o ažuriranjima sustava BaseSpace

- 1 Na početnom zaslonu odaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
- 2 Odaberite **Software Update** (Ažuriranje softvera).
- 3 Odaberite **Automatically check for new software updates on BaseSpace** (Automatski traži nova ažuriranja softvera u sustavu BaseSpace).

Postavljanje preferencija za e-poštu

MiSeq se može konfigurirati tako da e-poštom šalje obavijest kad se dovrši analiza RTA, kad se dovrši sekundarna analiza na instrumentu ili ako dođe do kritične pogreške softvera MiSeq.

- 1 Na početnom zaslonu odaberite **Run Options** (Mogućnosti obrade).
- 2 Odaberite karticu **Email Notifications** (Obavijesti e-poštom).
- 3 Unesite sljedeće podatke:
 - ▶ **Local SMTP email server address** (Adresa lokalnog SMTP poslužitelja e-pošte) – s pomoću zaslonske tipkovnice unesite adresu lokalnog SMTP poslužitelja e-pošte. Po potrebi taj podatak zatražite od administratora ustanove.
 - ▶ **Sender address** (Adresa e-pošte pošiljatelja) – s pomoću zaslonske tipkovnice unesite adresu e-pošte pošiljatelja. To može biti vaša adresa e-pošte ili neka druga adresa e-pošte koja je određena za slanje obavijesti e-poštom.
 - ▶ **Recipient addresses** (Adrese e-pošte primatelja) – s pomoću zaslonske tipkovnice unesite adrese e-pošte svih primatelja obavijesti. Adrese e-pošte razdvojite zarezom. Odaberite **Test** da biste poslali probnu poruku e-pošte primateljima obavijesti.

- ▶ **Notify via email when** (Šalji obavijest e-poštom kada) – potvrdite okvir uz svaki događaj obrade za koji želite da aktivira slanje obavijesti.

Postavljanje zadanih lokacija mapa

Mape se mogu nalaziti na lokalnoj mreži ili na računalu instrumenta.

- 1 Na početnom zaslonu odaberite **Run Options** (Mogućnosti obrade).
- 2 Odaberite karticu **Folder Settings** (Postavke mape).
- 3 Unesite zadane lokacije za sljedeće mape.
 - ▶ **Output Folder** (Mapa za izlazne datoteke) – određuje zadanu lokaciju za izlazne datoteke analize. Promijenite zadanu mapu za izlazne datoteke u mrežnu lokaciju da biste ih mogli dijeliti i pohraniti na dulje vrijeme. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Mape obrade na stranici 53*.
 - ▶ **Recipe Folder** (Mapa s receptima) – određuje zadanu lokaciju za recepte. Recepti su XML datoteke koje softver upotrebljava za pokretanje postupka sekvenciranja. Recept se stvara na početku obrade na temelju parametara s lista s uzorcima, a potom se kopira u izlaznu mapu.
 - ▶ **Sample Sheets Folder** (Mapa s listovima s uzorcima) – određuje zadanu lokaciju za listove s uzorcima. Listovi s uzorcima stvaraju se prije pripreme biblioteke te sadrže parametre za obradu.
 - ▶ **Manifest Folder** (Mapa s manifestima) – datoteke manifesta obavezne su za neke vrste biblioteka. Pogledajte dokumentaciju za pripremu uzoraka za komplet za pripremu uzoraka koji upotrebljavate te dokument *Sample Sheet Quick Reference Guide (Kratki referentni priručnik za listove s uzorcima, broj dokumenta 15028392)*.

Potrošni materijal koji mora pribaviti korisnik

Prije započinjanja obrade provjerite imate li na raspolaganju sljedeći potrošni materijal koji mora pribaviti korisnik.

Potrošni materijal	Dobavljač	Svrha
NaOH 1,0 N, kvalitete za primjenu u molekularnoj biologiji	Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora	Denaturiranje biblioteka uzoraka i PhiX kontrola DNK-a
Alkoholne maramice sa 70 % izopropila ili 70 % etanola	VWR, kataloški broj 95041-714* Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora	Čišćenje držača protočnog članka
Jednokratne rukavice bez pudera	Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora	Opća namjena
Laboratorijske maramice koje ne ispuštaju mnogo dlačica	VWR, kataloški broj 21905-026*	Čišćenje nosača protočnog članka i folije koja prekriva bazen uzoraka za analizu
Papir za objektivne, 4 x 6 inča	VWR, kataloški broj 52846-001*	Čišćenje protočnog članka
Epruvete za mikrocentrifugu	Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora	Denaturiranje i razrjeđivanje biblioteka uzoraka i PhiX kontrola DNK-a
Epruvete MiSeq	illumina, broj dijela MS-102-9999	Ispiranje voda predložaka; za upotrebu uz tijek rada VeriSeq PGS (nije obavezno za druge tijekove rada)

Potrošni materijal	Dobavljač	Svrha
NaOCl, 5 %	Sigma-Aldrich, kataloški broj 239305*	Ispiranje voda predložaka; za upotrebu uz tijek rada VeriSeq PGS (nije obavezno za druge tijekove rada)
Tween 20	Sigma-Aldrich, kataloški broj P7949	Pranje instrumenta
Pinceta, kvadratnog vrha, plastična (nije obavezno)	McMaster-Carr, kataloški broj 7003A22*	Vađenje protočnog članka iz spremnika za transport protočnog članka
Voda, laboratorijske kvalitete	Bilo koji dobavljač laboratorijskog pribora	Pranje instrumenta

* ili ekvivalentni proizvod laboratorijske kvalitete

Smjernice za vodu laboratorijske kvalitete

Za postupke na instrumentu uvijek upotrebljavajte vodu ili deioniziranu vodu laboratorijske kvalitete. Nipošto nemojte koristiti vodu iz slavine. Koristite samo sljedeće razrede vode ili njihove ekvivalente:

- ▶ deionizirana voda
- ▶ Illumina PW1
- ▶ voda od 18 megaoma (MΩ)
- ▶ voda Milli-Q
- ▶ voda Super-Q
- ▶ voda za primjenu u molekularnoj biologiji

Poglavlje 3 Sekvenciranje

Uvod	17
Trajanje obrade	17
Tijek rada MiSeq	19
Otapanje spremnika reagensa	20
Provjera spremnika reagensa	21
Denaturiranje i razrjeđivanje biblioteka	21
Umetanje biblioteka uzoraka	21
Postavljanje obrade s pomoću MCS-a	22
Čišćenje protočnog članka	24
Umetanje protočnog članka	25
Umetanje reagensa	27
Pokretanje obrade	28
Nadzor obrade	29
Provođenje ispiranja nakon obrade	31

Uvod

Da biste pokrenuli postupak sekvenciranja na instrumentu MiSeq, slijedite korake za postavljanje opisane u ovom poglavlju.

Postoje tri mogućnosti postavljanja obrade:

- ▶ Local Run Manager – odaberite obradu koja je pripremljena pomoću softvera Local Run Manager.
- ▶ Sample Sheet (List s uzorcima) – stvorite obradu pomoću listova s uzorcima. Listovi s uzorcima validiraju se putem softvera Local Run Manager.
- ▶ Manual (Ručno) – stvorite obradu ručnim unosom broja ciklusa za svako čitanje. Kada odaberete tu mogućnost, ne provode se sekundarne analize.

Kad započne obrada, više nije potrebno ništa činiti.

Upotrijebite jednu od sljedećih mogućnosti za nadzor obrade sekvenciranja:

- ▶ na instrumentu pomoću zaslona Sequencing (Sekvenciranje)
- ▶ s udaljene lokacije pomoću softvera Sequencing Analysis Viewer (SAV). Ta je neobavezna aplikacija dostupna za preuzimanje na web-mjestu tvrtke Illumina.
- ▶ s udaljene lokacije pomoću softvera Local Run Manager

Nakon dovršetka postupka sekvenciranja pokrenite ispiranje instrumenta.

Trajanje obrade

Trajanje obrade temelji se na broju izvršenih ciklusa. Možete provesti obradu uparenih krajeva s do 2 x 301 ciklusom sekvenciranja te bilo kojim brojem očitavanja indeksa s pomoću softvera MCS v2.3 ili novijeg.

Trajanje obrade, k tome, temelji se na verziji reagensa za MiSeq koji se upotrebljavaju te o nadogradnjama za poboljšanje performansi koje su instalirane u instrument.

Očekivano trajanje i druge specifikacije potražite na [stranici sa specifikacijama sustava MiSeq](#) na web-mjestu tvrtke Illumina.

Broj ciklusa u očitanju

U postupku sekvenciranja broj ciklusa koji se provedu u očitanju veći je za jedan od broja analiziranih ciklusa. Taj je dodatni ciklus nužan za izračune pri određivanju faza i predfaza.

Tijekom obrade uparenih krajeva s 300 ciklusa, primjerice, provedu se dva očitavanja 301 ciklusa (2 x 301), tj. ukupno 602 ciklusa. Na kraju obrade analizira se 2 x 300 ciklusa.

Tijek rada MiSeq



Pripremite unaprijed napunjeni spremnik reagensa za upotrebu.



Denaturirajte i razrijedite biblioteke (ne primjenjuje se na sve vrste biblioteka). Pročitajte dokument *Preparing Libraries for Sequencing on the MiSeq* (Priprema biblioteka za sekvenciranje na instrumentu MiSeq, broj dokumenta 15039740).



Umetnite mješavinu biblioteka u spremnik reagensa u za to namijenjeni bazen.



Na korisničkom sučelju softvera odaberite **Sequence** (Sekvenciranje) da biste pokrenuli korake za postavljanje obrade.



Na zaslonu Sequence Mode Selection (Odabir načina rada za sekvenciranje) odaberite mogućnost postavljanja obrade: **Local Run Manager**, **Sample Sheet** (List s uzorcima) ili **Manual** (Ručno).



[Neobavezno] Na zaslonu za odabir softvera Local Run Manager odaberite obradu.

[neobavezno] Povežite se sa sustavom BaseSpace ili BaseSpace Onsite.



[Neobavezno] Na zaslonu za odabir lista s uzorcima pronađite i odaberite list s uzorcima za obradu.

[neobavezno] Povežite se sa sustavom BaseSpace ili BaseSpace Onsite.



[Neobavezno] Na zaslonu za ručni način rada ručno unesite parametre obrade. U tom načinu rada nije dostupna sekundarna analiza.



Iperite te potpuno osušite protočni članak. Umetnite protočni članak.



Umetnite bocu PR2 te provjerite je li boca za otpad prazna. Umetnite spremnik reagensa.



Pregledajte parametre obrade te rezultate provjere prije obrade. Odaberite **Start Run** (Započni obradu).



Nadzirite obradu s korisničkog sučelja MCS-a ili drugog računala putem softvera Local Run Manager ili aplikacije Sequencing Analysis Viewer (SAV).



Pokrenite ispiranje nakon obrade.

Generiranje klastera

Tijekom generiranja klastera pojedinačne molekule DNK-a vežu se za površinu protočnog članka, a potom amplifikacijom uz nadsvođivanje formiraju klaster.

Sekvenciranje

Klasteri se nakon generiranja snimaju uz kombinaciju LED-a i filtera koja je specifična za svaki od četiri fluorescentno označena dideoksinukleotida. Nakon dovršetka snimanja jedne pločice protočni se članak pomiče radi ekspozicije sljedeće pločice. Taj se postupak ponavlja za svaki ciklus sekvenciranja. Nakon analize slika softver provodi određivanje baza, filtriranje i ocjenjivanje kvalitete.

Analiza

Kada obrada bude završena pomoću softvera Local Run Manager ili načina rada Sample Sheet (Listovi s uzorcima), automatski će se pokrenuti softver za analizu Local Run Manager koji će provesti sekundarnu analizu, što obuhvaća usklađivanje i dodjelu naziva varijantama. Sekundarnu analizu možete nadzirati s drugog računala putem internetske veze. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Postavljanje mogućnosti softvera Local Run Manager na stranici 22*.

Otapanje spremnika reagensa

Otopite spremnik reagensa u vodenoj kupki na sobnoj temperaturi.

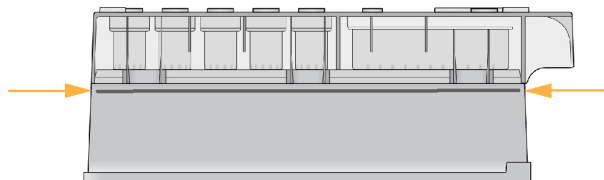


NAPOMENA

Reagense možete otopiti i tako da ih preko noći ostavite u spremištu u kojem je temperatura od 2 °C do 8 °C. Ako se drže na toj temperaturi, reagensi su stabilni do jedan tjedan.

- 1 Izvadite spremnik reagensa iz spremišta u kojem je temperatura od -25 °C do -15 °C.
- 2 Postavite spremnik reagensa u vodenu kupku s dovoljnom količinom deionizirane vode sobne temperature da se potopi postolja spremnika reagensa. Pazite da voda ne prelazi crtu za maksimalnu količinu vode koja je otisnuta na spremniku reagensa.

SI. 10 Crta za maksimalnu količinu vode



- 3 Pričekajte da se spremnik reagensa potpuno otopi u vodenoj kupki sobne temperature.
 - ▶ Spremnici MiSeq v3 – ~ 60 – 90 minuta.
 - ▶ Spremnici MiSeq v2 – ~ 60 minuta.
- 4 Izvadite spremnik iz vodene kupke te nježno njime lupkajte po radnoj površini da biste izbacili vodu iz postolja spremnika. Osušite postolje spremnika.

Provjera spremnika reagensa

- 1 Deset puta preokrenite spremnik reagensa da biste pomiješali otopljene reagense, a potom provjerite jesu li svi položaji otopljeni.
- 2 Provjerite jesu li reagensi na položajima 1, 2 i 4 potpuno pomiješani i bez precipitata.
- 3 Lagano spremnikom lupkajte po radnoj površini da biste smanjili broj mjehurića zraka u reagensima.



NAPOMENA

Na dnu svakog bazena nalaze se cjevčice za doziranje MiSeq koje služe za aspiraciju reagensa, pa je važno da u spremnicima nema mjehurića zraka.

- 4 Spremnik reagensa držite na ledu do šest sati ili ga odložite u spremište u kojem je temperatura od 2 °C do 8 °C dok ne budete spremni za postavljanje obrade. Da biste postigli najbolje rezultate, odmah umetnite uzorak i postavite obradu.



UPOZORENJE

Taj skup reagensa sadrži potencijalno opasne kemikalije. Uslijed udisanja, gutanja, dodira s kožom i dodira s očima može doći do ozljeda. Nosite zaštitnu opremu, uključujući zaštitu za oči, rukavice i laboratorijsku kuhu prikladnu za rizik od izlaganja. Iskorištenim reagensima rukujte kao kemijskim otpadom i zbrinite ih u skladu odgovarajućim regionalnim, nacionalnim i mjesnim zakonima i propisima. Dodatne informacije o zaštiti okoliša, zdravlja i sigurnosti potražite u sigurnosno-tehničkom listu na adresi support.illumina.com/sds.html.

Denaturiranje i razrjeđivanje biblioteka

Ako je to potrebno za vašu vrstu biblioteka, denaturirajte i razrijedite biblioteke te dodajte neobaveznu PhiX kontrolu. Pogledajte *MiSeq System Denature and Dilute Libraries Guide (Priručnik za denaturiranje i razrjeđivanje biblioteka za sustav MiSeq, broj dokumenta 15039740)*. Ako upotrebljavate tijekom rada VeriSeq PGS, pročitajte dokument *VeriSeq PGS Library Preparation Guide (Vodič za pripremu biblioteka za VeriSeq PGS, broj dokumenta 15052877)*.

Ovaj se korak ne odnosi na sve vrste biblioteka. Nekim se metodama pripreme uzoraka tvrtke Illumina dobivaju normalizirane koncentracije skupova biblioteka koje su spremne za upotrebu. Pročitajte vodič za pripremu uzoraka za komplet za pripremu biblioteka uzoraka koji upotrebljavate.



NAPOMENA

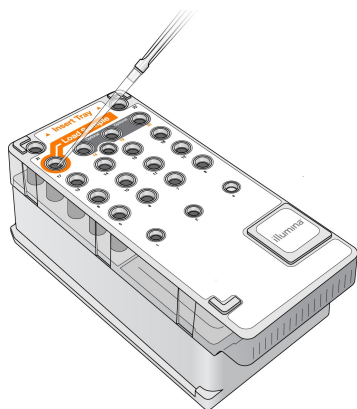
Ako upotrebljavate prilagođene otopine za pripremu, pripremite otopine za pripremu pa postavite list s uzorcima prema uputama iz dokumenta *MiSeq Custom Primers Guide (Priručnik za prilagođene otopine za pripremu za sustav MiSeq, broj dokumenta 15041638)*.

Umetanje biblioteka uzoraka

Kad se spremnik reagensa potpuno otopi te bude spreman za upotrebu, na spremnik umetnite pripremljene biblioteke.

- 1 Rupčićem koji ne ostavlja dlačice očistite foliju koja prekriva bazen s oznakom **Load Samples** (Umetnite uzorke).
- 2 Probušite foliju čistom pipetom od 1 ml.
- 3 Pipetom nanosite 600 µl pripremljenih biblioteka u bazen **Load Samples** (Umetnite uzorke). Nemojte dirati foliju.

SI. 11 Umetanje biblioteka



- 4 Nastavite s koracima za postavljanje obrade s pomoću sučelja softvera MiSeq Control Software (MCS).

Postavljanje obrade s pomoću MCS-a

- 1 Na početnom zaslonu odaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
- 2 Odaberite **Reboot** (Ponovno pokreni) da biste ponovno pokrenuli softver sustava.
- 3 **[Nije obavezno]** Sa zaslona Run Options (Mogućnosti pokretanja) provjerite lokacije mapa za MiSeqOutput, recepte, listove s uzorcima i manifeste. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Postavljanje zadanih lokacija mapa na stranici 15*.
- 4 Na početnom zaslonu odaberite **Sequence** (Sekvenciranje) da biste započeli s koracima za postavljanje obrade.
Otvorit će se zaslon Sequence Mode Selection (Odabir načina rada za sekvenciranje).
Kada na početnom zaslonu odaberete **Sequence** (Sekvenciranje), otvara se niz zaslona za postavljanje obrade, i to sljedećim redoslijedom: Sequence Mode Selection (Local Run Manager, Sample Sheet, Manual) (Odabir načina rada za sekvenciranje – Local Run Manager, List s uzorcima, Ručno), BaseSpace Option (Mogućnost sustava BaseSpace), Load Flow Cell (Umetanje protočnog članka), Load Reagents (Umetanje reagensa), Review (Pregled) i Pre-Run Check (Provjera prije obrade).

Postavljanje mogućnosti softvera Local Run Manager

- 1 Na početnom zaslonu odaberite **Sequence** (Sekvenciranje).
- 2 Na zaslonu Sequence Mode Selection (Odabir načina rada za sekvenciranje) odaberite **Local Run Manager**.
- 3 **[Neobavezno]** Na zaslonu BaseSpace Options (Mogućnosti za BaseSpace) odaberite **Use BaseSpace™** (Upotrijebi BaseSpace™).
Informacije potražite u odjeljku *Postavljanje mogućnosti za BaseSpace ili BaseSpace Onsite na stranici 23*.
- 4 Odaberite **Next** (Dalje).
- 5 Na popisu dostupnih obrada odaberite naziv obrade.
- 6 **[Neobavezno]** Odaberite **Preview Samples** (Pretpregled uzoraka) da biste pogledali uzorke povezane s analizom.
- 7 Odaberite **Next** (Dalje) da biste nastavili na odjeljak *Umetanje protočnog članka na stranici 25*.



NAPOMENA

Protočne članke očistite prije umetanja. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Čišćenje protočnog članka na stranici 24.*

Postavljanje mogućnosti lista s uzorcima

- 1 Na početnom zaslonu odaberite **Sequence** (Sekvenciranje).
- 2 Na zaslonu Sequence Mode Selection (Odabir načina rada za sekvenciranje) odaberite **Sample Sheet** (List s uzorcima).
- 3 [Neobavezno] Na zaslonu BaseSpace Options (Mogućnosti za BaseSpace) odaberite **Use BaseSpace™** (Upotrijebi BaseSpace™).
Informacije potražite u odjeljku *Postavljanje mogućnosti za BaseSpace ili BaseSpace Onsite na stranici 23.*
- 4 Odaberite **Next** (Dalje).
- 5 Pregledajte da biste odabrali datoteku s listom s uzorcima.
Datoteka se šalje u Local Run Manager radi validacije ili stvaranja obrade.
- 6 [Neobavezno] Odaberite **Disable Local Run Manager Secondary Analysis** (Onemogućí sekundarnu analizu softvera Local Run Manager) da biste zaobišli sekundarnu analizu softvera Local Run Manager.
- 7 Riješite sve pogreške na listu s uzorcima.
- 8 Odaberite **Next** (Dalje) da biste nastavili na odjeljak *Umetanje protočnog članka na stranici 25.*



NAPOMENA

Protočne članke očistite prije umetanja. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Čišćenje protočnog članka na stranici 24.*

Postavljanje mogućnosti za BaseSpace ili BaseSpace Onsite

Po želji možete pokrenuti i sekundarnu analizu koristeći BaseSpace ili BaseSpace Onsite.

Ako su odabrani načini rada Local Run Manager ili Sample Sheet (List s uzorcima), po želji možete pokrenuti i sekundarnu analizu koristeći BaseSpace ili BaseSpace Onsite.

- 1 Na zaslonu BaseSpace Options (Mogućnosti za BaseSpace) odaberite **Use BaseSpace™** (Upotrijebi BaseSpace™).
Ako odaberete tu mogućnost, neobrađene podatke te obrade spremit ćete u MiSeq.
- 2 Odaberite nešto od sljedećeg:
 - ▶ **Send all run data to BaseSpace Sequence Hub for remote monitoring and data analysis.** (Pošalji sve podatke obrade u središte BaseSpace Sequence Hub radi udaljenog nadzora i analize podataka.)
 - ▶ **Only send run information files to BaseSpace Sequence Hub so runs can be monitored remotely.** (Pošalji samo datoteke s informacijama o obradi u središte BaseSpace Sequence Hub radi udaljenog nadzora obrada)
- 3 Unesite vjerodajnice računa za Myllumina.
- 4 Odaberite **Next** (Dalje).

Postavljanje mogućnosti Manual (Ručno)

- 1 Na početnom zaslonu odaberite **Sequence** (Sekvenciranje).

- 2 Na zaslону Sequence Mode Selection (Odabir načina rada za sekvenciranje) odaberite **Manual** (Ručno).
- 3 [Neobavezno] Odaberite **Use run monitoring only** (Koristi samo nadzor obrade) i unesite vjerodajnice za Myllumina.



NAPOMENA

Mogućnost analize i prostora za pohranu središta za sekvenciranje za BaseSpace nije dostupna u ručnom načinu rada.

- 4 Odaberite **Next** (Dalje).
- 5 Postavite vrstu čitanja, trajanje čitanja i prilagođene otopine za pripremu za sve cikluse.
- 6 Odaberite **Next** (Dalje) da biste nastavili na odjeljak *Umetanje protočnog članka na stranici 25*.



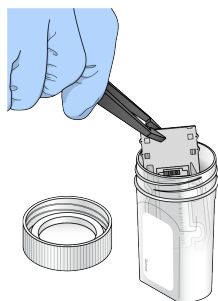
NAPOMENA

Protočne članke očistite prije umetanja. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Čišćenje protočnog članka na stranici 24*.

Čišćenje protočnog članka

- 1 Navucite novi par rukavica bez pudera.
- 2 Plastičnom hvataljkom primite protočni članak za postolje plastičnog spremnika te ga izvadite iz spremnika protočnog članka.

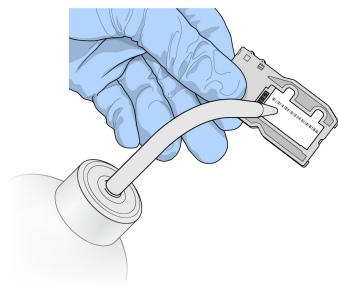
SI. 12 Vađenje protočnog članka



- 3 Lagano ispirite protočni članak vodom laboratorijske kvalitete dok stakleni i plastični spremnik potpuno ne isperete od viška soli.

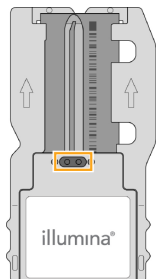
Višak soli može utjecati na to kako protočni članak sjeda na instrument. Ako se soli osuše u području za snimanje, to može utjecati i na snimke.

SI. 13 Ispiranje protočnog članka



- 4 Temeljito posušite protočni članak i spremnik rupčićem za objektivu koji ne ispušta dlačice uz osobit oprez na dijelovima oko crne brtve na priključku protočnog članka. Nježnim lupkanjem posušite područje brtve i staklo uz nju.

SI. 14 Priključci i brtva protočnog članka



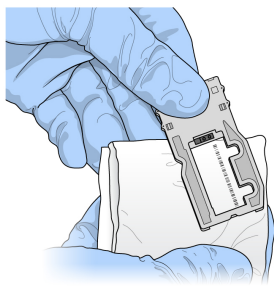
- 5 Staklo protočnog članka očistite alkoholnom maramicom. Pazite da na staklu ne ostane pruga, otisaka prstiju ni dlačica ili vlakana s rupčića.



NAPOMENA

Alkoholnu maramicu nemojte upotrebljavati na brtvi priključka protočnog članka.

SI. 15 Sušenje protočnog članka

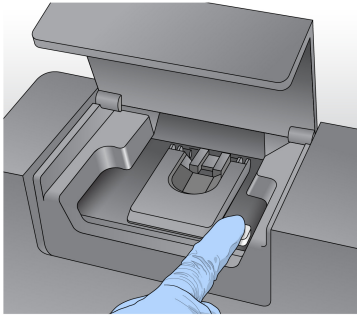


- 6 Višak alkohola posušite rupčićem za čišćenje objektivu koji ne ispušta dlačice.
- 7 Provjerite da ništa ne zatvara priključke protočnog članka te da brtva čvrsto sjedi oko priključaka protočnog članka.
Ako vam se čini da brtva ne sjedi na mjestu, nježno je pritisnite i vratite na mjesto oko priključaka protočnog članka.

Umetanje protočnog članka

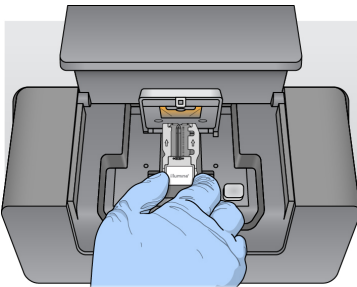
- 1 Podignite vratašca odjeljka za protočni članak pa pritisnite gumb za otpuštanje koji se nalazi desno od stezaljke protočnog članka.
Otvorit će se stezaljka protočnog članka.

SI. 16 Otvaranje stezaljke protočnog članka



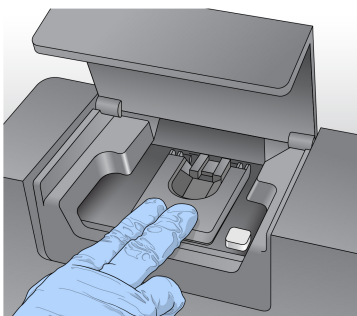
- 2 Provjerite da u nosaču protočnog članka nema dlačica. U slučaju prisutnosti dlačica ili neke druge prljavštine, očistite nosač protočnog članka alkoholnom maramicom ili pak rupčićem navlaženim etanolom ili izopropanolom. Oprezno brišite površinu nosača protočnog članka dok ne bude čista i suha.
- 3 Držeći protočni članak za rubove, postavite ga na nosač protočnog članka.

SI. 17 Postavljanje protočnog članka na nosač



- 4 Lagano pritisnite stezaljku protočnog članka prema dolje da biste je zatvorili preko protočnog članka. Kad se zatvori stezaljka protočnog članka, iglice za poravnanje postavit će protočni članak na odgovarajuće mjesto. Kad se stezaljka zatvori, čut ćete škljocaj.

SI. 18 Zatvaranje stezaljke protočnog članka



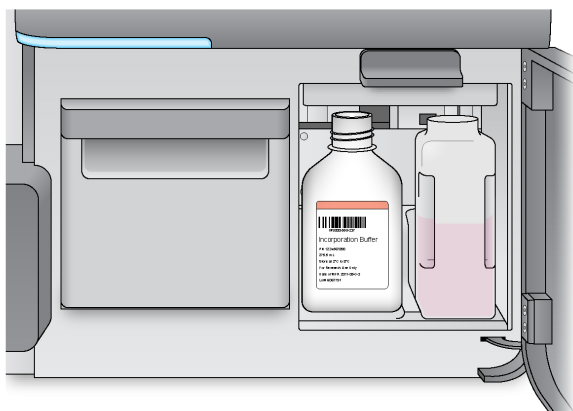
- 5 Ako softver ne prepozna RFID protočnog članka, pročitajte odjeljak *Otklanjanje pogreške zbog neuspješnog očitavanja RFID-a na stranici 49*.
- 6 Zatvorite vratašca odjeljka za protočni članak.
- 7 Odaberite **Next** (Dalje).

Umetanje reagensa

Umetanje PR2 i provjera boce za otpad

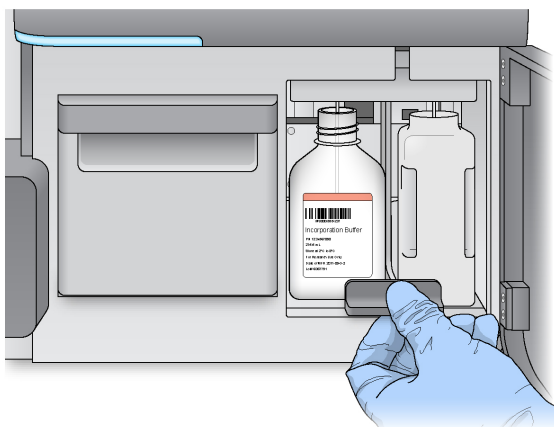
- 1 Izvadite bocu PR2 iz spremišta u kojem je temperatura od 2 °C do 8 °C. Preokrenite je da biste je promiješali, a potom uklonite poklopac.
- 2 Otvorite vratašca odjeljka za reagensne.
- 3 Podižite ručku dozatora dok se ne blokira na mjestu.
- 4 Izvadite bocu za ispiranje pa umetnite bocu PR2.

SI. 19 Umetanje boce PR2



- 5 Sadržaj boce za otpad ispraznite u odgovarajući spremnik za otpad.
- 6 Polako spuštajte ručku dozatora. Pazite da se dozatori spuste u bocu PR2 i bocu za otpad.

SI. 20 Spuštanje ručke dozatora



- 7 Ako softver ne prepozna RFID boce PR2, pročitajte odjeljak *Otklanjanje pogreške zbog neuspješnog očitavanja RFID-a* na stranici 49.
- 8 Odaberite **Next** (Dalje).

Umetanje spremnika reagensa

- 1 Otvorite vratašca hladnjaka reagensa.



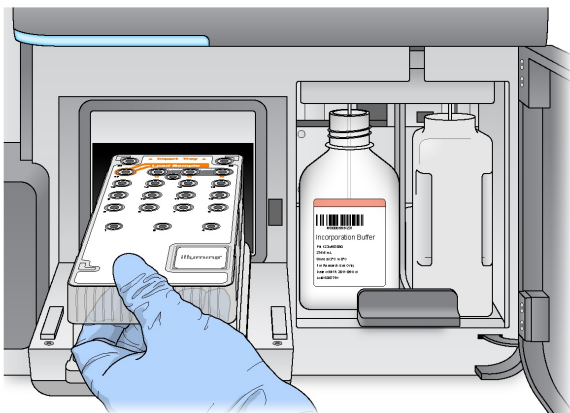
NAPOMENA

Vratašca hladnjaka reagensa nemojte tijekom duljeg vremena ostavljati otvorena.

- 2 Spremnik reagensa držite za kraj na kojem se nalazi oznaka Illumina te ga gurajte u hladnjak reagensa dok ne zastane.

Obavezno upotrebljavajte spremnik reagensa koji je povezan s vrstom umetnutog protočnog članka. Ako spremnik reagensa nije kompatibilan, prikazat će se poruka na zaslonu. Odaberite **Back** (Natrag) da biste umetnuli odgovarajući spremnik reagensa odnosno **Home** (Početno) da biste se vratili na početni zaslon.

SI. 21 Umetanje spremnika reagensa



- 3 Zatvorite vratašca hladnjaka reagensa.
- 4 Ako softver ne prepozna RFID spremnika reagensa, pročitajte odjeljak *Otklanjanje pogreške zbog neuspješnog očitavanja RFID-a na stranici 49*.
- 5 Ako spremnik reagensa nije kompatibilan s protočnim člankom, prikazat će se poruka. Odaberite **Back** (Natrag) da biste umetnuli kompatibilni spremnik odnosno **Exit** (Izlaz) da biste se vratili na početni zaslon.
- 6 Zatvorite vratašca odjeljka za reagense.
- 7 Odaberite **Next** (Dalje).

Pokretanje obrade

Nakon umetanja protočnog članka i reagensa, a prije pokretanja obrade, pregledajte parametre obrade te pokrenite provjeru prije obrade.



NAPOMENA

Obrada započinje automatski ako je u postavkama obrade odabrana mogućnost **Start run after pre-run check** (Pokreni obradu prije provjere prije obrade). Dodatne informacije potražite u odjeljku *Prilagodba postavki sustava na stranici 13*.

Pregled parametara obrade

- 1 Pregledajte parametre Experiment Name (Naziv eksperimenta), Module Name (Naziv modula), Read Type (Vrsta očitavanja), Read Length (Trajanje očitavanja) i Custom Primers (Prilagođene otopine za pripremu). Ti su parametri određeni na listu s uzorcima.
- 2 **[Neobavezno]** Kada koristite način rada Local Run Manager ili Manual (Ručno), odaberite **Edit** (Uređivanje) da biste unijeli promjene parametara Read Type (Vrsta očitavanja), Read Length (Trajanje očitavanja) ili Custom Primers (Prilagođene otopine za pripremu) te odaberite **Save** (Spremi).



NAPOMENA

Promjene indeksa moraju se unijeti na listu s uzorcima. Kada koristite način rada Sample Sheet (List s uzorcima), promjene je potrebno unijeti u izvorni list s uzorcima i zatim ga ponovno učitati.

- 3 Da biste pregledali lokacije mapa, odaberite **Change Folder** (Promjena mape).
- 4 Po potrebi izmijenite pa odaberite **Save and Continue** (Spremi i nastavi).
- 5 Odaberite **Next** (Dalje).

Promjena mapa

Da biste promijenili lokacije mapa, odaberite **Change Folder** (Promijeni mapu) i pronađite željenu lokaciju. Ako tu mogućnost koristite putem zaslona Review (Pregled), promijenit će se lokacije mapa za sve sljedeće obrade.

Pregled provjere prije obrade

Prije pokretanja obrade sustav provodi provjeru svih komponenti obrade, prostora na disku te mrežnih veza. Ako neka stavka ne prođe provjeru prije obrade, na zaslonu se prikazuje poruka s uputama za otklanjanje pogreške. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Otklanjanje pogrešaka u postavljanju obrade na stranici 48*.

Kada sve stavke uspješno prođu provjeru prije pokretanja, odaberite **Start Run** (Pokreni obradu).

Važne napomene prije pokretanja obrade



UPOZORENJE

MiSeq je osjetljiv na vibracije. Dodirivanje instrumenta nakon pokretanja obrade može negativno utjecati na rezultate sekvenciranja.

Nakon što odaberete **Start Run** (Pokreni obradu), nemojte otvarati vratašca odjeljka za protočni članak i odjeljka za reagense te nemojte dirati monitor instrumenta, osim ako želite pauzirati obradu. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Pauziranje obrade na stranici 47*.



UPOZORENJE

Prije pokretanja obrade obavezno zatvorite sve datoteke na instrumentu MiSeq i nemojte otvarati datoteke tijekom obrade.

Nadzor obrade

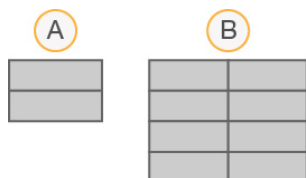
Tijekom obrade nadzirite pojedinosti o obradi pomoću zaslona Sequencing (Sekvenciranje) na instrumentu. Zaslona Sequencing (Sekvenciranje) služi samo kao prikaz.

Druge su mogućnosti nadziranja obrade sljedeće:

- ▶ Sequencing Analysis Viewer (SAV) instaliran na računalu nezavisnom od računala instrumenta. Za to je potrebna mrežna veza. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Sequencing Analysis Viewer na stranici 8*. Ako ste pak povezani sa sustavom BaseSpace, obradu možete nadzirati putem softvera SAV u sustavu BaseSpace.
- ▶ Local Run Manager za nadzor obrade s udaljene lokacije ako je instrument povezan s istom mrežom. Local Run Manager pokazuje napredak obrade i informacije o sekvenciranju (ukupan broj klastera, PF postotak klastera, postotak 1. i 2. očitavanja \geq Q30 te posljednji ciklus). Dodatne informacije potražite u odjeljku *Softver Local Run Manager na stranici 8*.

1 Na zaslonu instrumenta Sequencing (Sekvenciranje) nadzirite napredak obrade, intenzitete i rezultate kvalitete.

- ▶ **Run Progress** (Tijek obrade) – na traci statusa prikazuje tijek obrade te navodi broj dovršenih ciklusa.
- ▶ **Intensity** (Intenzitet) – prikazuje vrijednost intenziteta klastera u 90. centilu za svaku pločicu. Grafički prikaz u području Intensity (Intenzitet) predstavlja broj pločica i broj površina koje se snimaju:
 - ▶ Ako se snima samo gornja površina protočnog članka, prikazuje se grafikon s jednim stupcem.
 - ▶ Ako se snima i gornja i donja površina protočnog članka, prikazuje se grafikon s 2 stupca.



- A Označava 2 pločice, samo gornja površina
- B Označava 4 pločice, gornja i donja površina

- ▶ **Q-Score All Cycles** (Ocjena kvalitete za sve cikluse) – prikazuje prosječni postotak baza ocjene kvalitete (Q-score) veće od Q30. Ocjena kvalitete služi za predviđanje vjerojatnosti za pogrešno očitavanje baza. Ocjene kvalitete izračunavaju se nakon 25. ciklusa.

Ocjena kvalitete	Vjerojatnost pogrešnog očitavanja baza
Q40	1 : 10 000
Q30	1 : 1000
Q20	1 : 100
Q10	1 : 10

- ▶ **Cluster Density (K/mm²)** (Gustoća klastera (K/mm²)) – prikazuje broj klastera po četvornom milimetru za obradu.
- ▶ **Clusters Passing Filter (%)** (Klasteri koji prolaze kroz filtar (%)) – prikazuje postotak klastera koji prolaze kroz filtar na temelju filtra za čistoću tvrtke Illumina, koji mjeri kvalitetu. Ti se podaci prikazuju tek nakon 25. ciklusa.



NAPOMENA

Čistoća očitavanja baza omjer je intenziteta najjačeg signala i zbroja 2 najjača signala. Ako tijekom prvih 25 ciklusa više od 1 očitavanja baza ima vrijednost čistoće manju od 0,6, očitavanja ne prolaze filtar kvalitete.

- ▶ **Procijenjen prinos (Mb)** – prikazuje predviđeni broj baza očitanih tijekom obrade koji se mjeri u megabajtima. Ti se podaci prikazuju tek nakon 25. ciklusa.

2 Kad završi obrada, prikazuje se gumb Next (Dalje). Prije nastavka pregledajte rezultate na zaslonu Sequencing (Sekvenciranje).

**NAPOMENA**

Zaslon Sequencing (Sekvenciranje) prikazuje se dok ne odaberete Next (Dalje). Nakon što odaberete Next (Dalje), povratak na zaslon Sequencing (Sekvenciranje) više nije moguć.

- 3 Odaberite **Next** (Dalje) da biste zatvorili zaslon Sequencing (Sekvenciranje) i nastavili na ispiranje nakon obrade.

Generiranje predložaka

Generiranje predložaka postupak je kojim se definiraju pozicije klastera preko cijele površine protočnog članka prema položaju koordinata X i Y. Analiza u stvarnom vremenu (RTA) upotrebljava rane cikluse obrade za generiranje predložaka.

Nakon generiranja predložka položaja klastera slike koje se snimaju tijekom sljedećeg ciklusa snimanja poravnavaju se u odnosu na predložak. Izdvajaju se intenziteti pojedinačnih klastera u sva četiri kanala boja nukleotida te se od normaliziranih intenziteta klastera stvaraju očitavanja baza.

Metrika obrade

Metrika obrade prikazuje se na zaslonu Sequencing (Sekvenciranje) u različitim trenucima tijekom obrade. Tijekom koraka za generiranje klastera ne prikazuje se metrika.

Nakon početka sekvenciranja prikazuje se sljedeća metrika u navedenim ciklusima:

Metrika	Komplet	Ciklus
Intenzitet	Kompleti reagensa MiSeq, v3	Ciklus 1 – 7
	Kompleti reagensa MiSeq, v2	Ciklus 1 – 4
	Kompleti reagensa MiSeq, v1	Ciklus 1 – 4
Intenzitet i gustoća klastera	Kompleti reagensa MiSeq, v3	Ciklus 8 – 25
	Kompleti reagensa MiSeq, v2	Ciklus 5 – 25
	Kompleti reagensa MiSeq, v1	Ciklus 5 – 25
Intenzitet, gustoća klastera, % PF, prinos i ocjene kvalitete	Kompleti reagensa MiSeq, v3	Od ciklusa 26 do dovršetka obrade
	Kompleti reagensa MiSeq, v2	
	Kompleti reagensa MiSeq, v1	

Specifikacije obrade MiSeq potražite na stranici sa specifikacijama sustava MiSeq na web-mjestu tvrtke Illumina (www.illumina.com/systems/miseq/performance_specifications.ilmn).

Rezultati analize RTA

Rezultat analize RTA nakon postupka sekvenciranja skup je datoteka očitanih baza (*.bcl) ocijenjenih prema kvaliteti, koji se generira na temelju neobrađenih slikovnih datoteka. Popis datoteka i mapa za RTA potražite u odjeljku *Mape i datoteke za RTA na stranici 55*.

Provođenje ispiranja nakon obrade

Ispiranje nakon obrade standardno je ispiranje instrumenta koje se obavlja između postupaka sekvenciranja. Nakon dovršetka obrade obavezno provedite ispiranje instrumenta. Slijedite upute softvera za umetanje komponenti za ispiranje te provođenje ispiranja. Ispiranje nakon obrade traje približno 20 minuta.

Ispiranje pokrenite odmah nakon dovršetka obrade. Ispiranje instrumenta obavezno je da bi se mogla postaviti sljedeća obrada. Da biste ispiranje nakon obrade proveli u nekom drugom trenutku, a ne izravno nakon obrade, ispiranje pokrenite s pomoću naredbe na zaslonu Perform Wash (Provođenje ispiranja).



NAPOMENA

Iskorišteni protočni članak ostavite na instrumentu. Za ispiranje instrumenta u instrument mora biti umetnut protočni članak.

Redovitim ispiranjima instrumenta jamče se dosljedne performanse zbog sljedećeg:

- ▶ ispiru se svi ostaci reagensa iz vodova za fluide i dozatora
- ▶ sprječava se nakupljanje i kristaliziranje soli na vodovima za fluide i dozatorima
- ▶ sprječava se križna kontaminacija iz prethodne obrade

Ako upotrebljavate MCS v2.5 ili noviji, imate mogućnost provesti ispiranje nakon obrade koje obuhvaća ispiranje voda predložaka otopinom natrijeva hipoklorita (NaOCl). To ispiranje traje približno 30 minuta. Pročitajte odjeljak *Postupak uz ispiranje voda predložaka na stranici 33*.



NAPOMENA

Ako upotrebljavate tijekom rada VeriSeq PGS, provodite ispiranja nakon obrade koja obuhvaćaju ispiranje voda predložaka. Pročitajte odjeljak *Postupak uz ispiranje voda predložaka na stranici 33*.

Potrošni materijal

- ▶ Tween 20
- ▶ voda laboratorijske kvalitete
- ▶ NaOCl (upotrebljava se za ispiranje nakon obrade koje obuhvaća ispiranje voda predložaka)
- ▶ epruveta MiSeq (broj dijela MS-102-9999) (za ispiranja nakon obrade koja obuhvaćaju ispiranje voda predložaka)

Postupak

- 1 S pomoću sredstva Tween 20 i vode laboratorijske kvalitete pripremite svježu otopinu za ispiranje:
 - a Dodajte 5 ml 100-postotnog sredstva Tween 20 u 45 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 10-postotnu otopinu sredstva Tween 20.
 - b Dodajte 25 ml 10-postotnog sredstva Tween 20 u 475 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 0,5-postotnu otopinu sredstva Tween 20 za ispiranje.
 - c Promiješajte je tako da je pet puta preokrenete.
- 2 Pripremite komponente za pranje sa svježom otopinom za ispiranje:
 - a U svaki bazen plitice za ispiranje dodajte 6 ml sredstva za ispiranje.
 - b Dodajte 350 ml otopine za ispiranje u bocu za ispiranje od 500 ml.
- 3 Nakon dovršetka obrade odaberite **Start Wash** (Pokreni ispiranje). Softver će automatski podići dozatore u hladnjaku reagensa.
Nemojte odabrati **Perform optional template line wash** (Provedi neobavezno ispiranje voda predložaka) na zaslonu Post-Run Wash (Ispiranje nakon obrade). Za ispiranje voda predložaka potreban je drukčiji postupak. Pročitajte odjeljak *Postupak uz ispiranje voda predložaka na stranici 33*.
- 4 Otvorite vratašca odjeljka za reagense i vratašca hladnjaka reagensa pa izvucite iskorišteni spremnik reagensa iz hladnjaka.
- 5 Gurnite pliticu za ispiranje do kraja u hladnjak reagensa pa zatvorite vratašca hladnjaka reagensa.
- 6 Podižite ručku dozatora ispred boce PR2 i boce za otpad dok se ne blokira na mjestu.

- Uklonite bocu PR2 te je zamijenite bocom za ispiranje.



NAPOMENA

Bocu PR2 bacite nakon svake obrade. Nemojte upotrebljavati preostali PR2.

- Uklonite bocu za otpad te njezin sadržaj na odgovarajući način odložite u otpad. Vratite bocu za otpad u odjeljak za reagense.



UPOZORENJE

Taj skup reagensa sadrži potencijalno opasne kemikalije. Uslijed udisanja, gutanja, dodira s kožom i dodira s očima može doći do ozljeda. Nosite zaštitnu opremu, uključujući zaštitu za oči, rukavice i laboratorijsku kutu prikladnu za rizik od izlaganja. Iskorištenim reagensima rukujte kao kemijskim otpadom i zbrinite ih u skladu odgovarajućim regionalnim, nacionalnim i mjesnim zakonima i propisima. Dodatne informacije o zaštiti okoliša, zdravlja i sigurnosti potražite u sigurnosno-tehničkom listu na adresi support.illumina.com/sds.html.

- Polako spustite ručku dozatora da bi se dozatori spustili u bocu za ispiranje i bocu za otpad.
- Zatvorite vratašca odjeljka za reagense.
- Odaberite **Next** (Dalje).

Nakon ispiranja iskorišteni protočni članak, pliticu za ispiranje i bocu za ispiranje s ostatkom otopine za ispiranje ostavite na instrumentu.



NAPOMENA

Dozatori ostaju na donjem položaju, što je normalno. Neiskorištenu otopinu za ispiranje ostavite u plitici za ispiranje i boci za ispiranje da se dozatori ne bi osušili te da zrak ne bi ušao u sustav.

Postupak uz ispiranje voda predložaka

- S pomoću sredstva Tween 20 i vode laboratorijske kvalitete pripremite svježu otopinu za ispiranje:
 - Dodajte 5 ml 100-postotnog sredstva Tween 20 u 45 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 10-postotnu otopinu sredstva Tween 20.
 - Dodajte 25 ml 10-postotnog sredstva Tween 20 u 475 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 0,5-postotnu otopinu sredstva Tween 20 za ispiranje.
 - Promiješajte je tako da je pet puta preokrenete.
- S pomoću vode laboratorijske kvalitete pripremite svježu otopinu NaOCl za ispiranje:
 - Dodajte 36 µl 5-postotnog NaOCl u 864 µl vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti razrjeđenje NaOCl u omjeru 1 : 25.
 - Dodajte 50 µl razrijeđenog NaOCl u omjeru 1 : 25 u 950 µl vode laboratorijske kvalitete u epruveti MiSeq (broj dijela MS-102-9999).



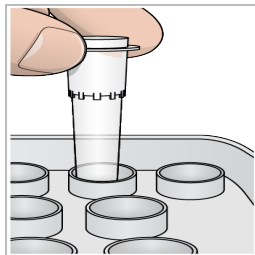
NAPOMENA

Važno je upotrebljavati točnu koncentraciju NaOCl. Obavezno provjerite postotak koncentracije NaOCl na naljepnici proizvoda. Ako je koncentracija prevelike, generiranje klastera prilikom sljedećih obrada možda neće uspjeti. Ako vam nije dostupan 5-postotni NaOCl, napravite 1 ml otopine 0,01-postotnog NaOCl u vodi laboratorijske kvalitete. **Nemojte** upotrebljavati NaOCl prilikom ispiranja radi održavanja ni prilikom ispiranja u stanju mirovanja.

- Pripremite komponente za pranje sa svježom otopinom za ispiranje:

- a U svaki bazen plitice za ispiranje dodajte 6 ml sredstva za ispiranje.
 - b Dodajte 350 ml otopine za ispiranje u bocu za ispiranje od 500 ml.
- 4 Epruvetu MiSeq s 0,01-postotnom otopinom NaOCl za ispiranje postavite na položaj 17 na plitici za ispiranje tako da vrat epruvete bude u ravnini s pliticom. Tom epruvetom zamijenite otopinu za ispiranje koja se sastoji od sredstva Tween 20 i vode laboratorijske kvalitete na položaju 17.

SI. 22 Epruveta MiSeq na položaju 17 u plitici za ispiranje



NAPOMENA

Pazite da epruvetu MiSeq s NaOCl u pliticu postavite isključivo na položaj 17. U slučaju umetanja epruvete na neki drugi položaj generiranje klastera prilikom sljedećih obrada možda neće uspjeti, a može se i oštetiti sustav fluida instrumenta MiSeq.

- 5 Nakon dovršetka obrade odaberite **Start Wash** (Pokreni ispiranje). Softver će automatski podići dozatore u hladnjaku reagensa.
- 6 Odaberite **Perform optional template line wash** (Provedi neobavezno ispiranje voda predložaka) na zaslonu Post-Run Wash (Ispiranje nakon obrade). Prilikom upotrebe tijekom rada VeriSeq PGS mogućnost **Perform optional template line wash** (Provedi neobavezno ispiranje voda predložaka) unaprijed je odabrana. MCS prati koja se vrsta ispiranja provela nakon svake obrade. Ako za ispiranje nakon obrade nije odabrana mogućnost **Perform optional template line wash** (Provedi neobavezno ispiranje voda predložaka), poruka na zaslonu Run Review (Pregled obrade) podsjetit će vas na to kad sljedeći put pokrenete postupak sekvenciranja.
- 7 Otvorite vratašca odjeljka za reagense i vratašca hladnjaka reagensa pa izvucite iskorišteni spremnik reagensa iz hladnjaka.
- 8 Gurnite pliticu za ispiranje do kraja u hladnjak reagensa pa zatvorite vratašca hladnjaka reagensa.
- 9 Podižite ručku dozatora ispred boce PR2 i boce za otpad dok se ne blokira na mjestu.
- 10 Uklonite bocu PR2 te je zamijenite bocom za ispiranje.



NAPOMENA

Bocu PR2 bacite nakon svake obrade. Nemojte upotrebljavati preostali PR2.

- 11 Uklonite bocu za otpad te njezin sadržaj na odgovarajući način odložite u otpad. Vratite bocu za otpad u odjeljak za reagense.



UPOZORENJE

Taj skup reagensa sadrži potencijalno opasne kemikalije. Uslijed udisanja, gutanja, dodira s kožom i dodira s očima može doći do ozljeda. Nosite zaštitnu opremu, uključujući zaštitu za oči, rukavice i laboratorijsku kudu prikladnu za rizik od izlaganja. Iskorištenim reagensima rukujte kao kemijskim otpadom i zbrinite ih u skladu odgovarajućim regionalnim, nacionalnim i mjesnim zakonima i propisima. Dodatne informacije o zaštiti okoliša, zdravlja i sigurnosti potražite u sigurnosno-tehničkom listu na adresi support.illumina.com/sds.html.

12 Polako spustite ručku dozatora da bi se dozatori spustili u bocu za ispiranje i bocu za otpad.

13 Zatvorite vratašca odjeljka za reagense.

14 Odaberite **Next** (Dalje).

Nakon ispiranja iskorišteni protočni članak, pliticu za ispiranje i bocu za ispiranje s ostatkom otopine za ispiranje ostavite na instrumentu.



NAPOMENA

Dozatori ostaju na donjem položaju. Neiskorištenu otopinu za ispiranje ostavite u plitici za ispiranje i boci za ispiranje da se dozatori ne bi osušili te da zrak ne bi ušao u sustav.

Poglavlje 4 Održavanje

Učestalost održavanja	37
Učestalost održavanja za tijek rada VeriSeq PGS	37
Provođenje ispiranja radi održavanja	38
Provođenje ispiranja u stanju mirovanja	40
Upravljanje datotekama	42
Ažuriranja softvera	43
Isključivanje instrumenta	44

Učestalost održavanja

Sljedeće postupke održavanja provodite u preporučenim intervalima.



NAPOMENA

Ako upotrebljavate tijek rada VeriSeq PGS, obavezno se pridržavajte smjernica o učestalosti održavanja za VeriSeq PGS. Pročitajte odjeljak *Učestalost održavanja za tijek rada VeriSeq PGS* na stranici 37.

Tbl. 2 Održavanje tijekom normalnog rada

Aktivnost	Učestalost
Ispiranje nakon obrade	Nakon svake obrade
Ispiranje radi održavanja	Svaki mjesec
Ispiranje u stanju mirovanja	Kao priprema za neaktivnost (≥ 7 dana neupotrebe) te svakih 30 dana neaktivnosti instrumenta
Isključivanje instrumenta	Prema potrebi

Tbl. 3 Održavanje tijekom neaktivnosti (≥ 7 dana neupotrebe)

Aktivnost	Učestalost
Ispiranje u stanju mirovanja	Svaki mjesec
Isključivanje instrumenta	Prema potrebi

Učestalost održavanja za tijek rada VeriSeq PGS

Ako upotrebljavate tijek rada VeriSeq PGS, provedite sljedeće postupke održavanja u preporučenim intervalima.

Tbl. 4 Održavanje tijekom normalnog rada

Aktivnost	Učestalost
Ispiranje nakon obrade	Nakon svake obrade
Ispiranje radi održavanja	Svaki mjesec
Ispiranje nakon obrade sa zaslona Perform Wash (Provođenje ispiranja)	Nakon stanja neaktivnosti (> 3 dana neupotrebe)
Ispiranje u stanju mirovanja	Kao priprema za neaktivnost (≥ 7 dana neupotrebe) te svakih 30 dana neaktivnosti instrumenta
Isključivanje instrumenta	Prema potrebi

Tbl. 5 Održavanje tijekom neaktivnosti (≥ 7 dana neupotrebe)

Aktivnost	Učestalost
Ispiranje u stanju mirovanja	Svaki mjesec
Isključivanje instrumenta	Prema potrebi

Provođenje ispiranja radi održavanja

Ispiranje radi održavanja provodite svakih 30 dana da bi se zajamčile optimalne performanse instrumenta. Ispiranje radi održavanja traje približno 90 minuta. Ispiranje se sastoji od tri koraka pranja kojima se temeljito ispiru sustav.

Instrument možete konfigurirati i da se ispiranje radi održavanja provodi između obrada. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Prilagodba postavki sustava na stranici 13*.

Potrošni materijal koji mora pribaviti korisnik

- ▶ Tween 20 (Sigma-Aldrich, kataloški broj P7949)
- ▶ voda laboratorijske kvalitete

Postupak

- 1 Provjerite je li u instrument umetnut iskorišteni protočni članak.
- 2 Na početnom zaslonu odaberite **Perform Wash** (Provedi ispiranje).
- 3 Na zaslonu Perform Wash (Provođenje ispiranja) odaberite **Perform Maintenance Wash** (Provedi ispiranje radi održavanja).
Softver će automatski podići dozatore u hladnjaku reagensa.

Provođenje prvog ispiranja

- 1 S pomoću sredstva Tween 20 i vode laboratorijske kvalitete pripremite svježu otopinu za ispiranje:
 - a Dodajte 5 ml 100-postotnog sredstva Tween 20 u 45 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 10-postotnu otopinu sredstva Tween 20.
 - b Dodajte 25 ml 10-postotnog sredstva Tween 20 u 475 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 0,5-postotnu otopinu sredstva Tween 20 za ispiranje.
 - c Promiješajte je tako da je pet puta preokrenete.
- 2 Pripremite komponente za pranje sa svježom otopinom za ispiranje:
 - a U svaki bazen plitice za ispiranje dodajte 6 ml sredstva za ispiranje.
 - b Dodajte 350 ml otopine za ispiranje u bocu za ispiranje od 500 ml.
- 3 Umetnite pliticu za ispiranje i bocu za ispiranje u instrument:
 - a Otvorite vratašca odjeljka za reagense i vratašca hladnjaka reagensa pa izvucite iskorišteni spremnik reagensa ili pliticu za ispiranje iz hladnjaka.
 - b Gurajte pliticu za ispiranje u hladnjak reagensa dok se ne zaustavi. Zatvorite vratašca hladnjaka reagensa.
 - c Podižite ručku dozatora ispred boce PR2 i boce za otpad dok se ne blokira na mjestu pa zamijenite bocu PR2 bocom za ispiranje.



NAPOMENA

Bocu PR2 bacite nakon svake obrade. Nemojte upotrebljavati preostali PR2.

- a Uklonite bocu za otpad te njezin sadržaj na odgovarajući način odložite u otpad. Vratite bocu za otpad u odjeljak za reagense.
 - b Polako spustite ručku dozatora da bi se dozatori spustili u bocu za ispiranje i bocu za otpad.
 - c Zatvorite vratašca odjeljka za reagense.
- 4 Odaberite **Next** (Dalje). Započet će prvo ispiranje.

Provođenje drugog ispiranja

Za svaki korak ispiranja upotrebljavajte svježiu otopinu za ispiranje. Ponovnom upotrebom otopine za ispiranje iz prethodnog ispiranja može se vratiti otpad u vodove za fluide.

- 1 S pomoću sredstva Tween 20 i vode laboratorijske kvalitete na sljedeći način pripremite svježiu otopinu za ispiranje:
 - a Dodajte 5 ml 100-postotnog sredstva Tween 20 u 45 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 10-postotnu otopinu sredstva Tween 20.
 - b Dodajte 25 ml 10-postotnog sredstva Tween 20 u 475 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 0,5-postotnu otopinu sredstva Tween 20 za ispiranje.
 - c Promiješajte je tako da je pet puta preokrenete.
- 2 Nakon dovršetka prvog ispiranja izvadite pliticu za ispiranje i bocu za ispiranje te bacite preostalu tekućinu za ispiranje.
- 3 Na sljedeći način ponovno napunite komponente za pranje svježom otopinom za ispiranje:
 - a U svaki bazen plitice za ispiranje dodajte 6 ml sredstva za ispiranje.
 - b Dodajte 350 ml otopine za ispiranje u bocu za ispiranje od 500 ml.
- 4 Na sljedeći način umetnite pliticu za ispiranje i bocu za ispiranje:
 - a Gurajte pliticu za ispiranje u hladnjak reagensa dok se ne zaustavi. Zatvorite vratašca hladnjaka reagensa.
 - b Umetnite bocu za ispiranje pa polako spustite ručku dozatora da bi se dozatori spustili u bocu za ispiranje i bocu za otpad.
 - c Zatvorite vratašca odjeljka za reagense.
- 5 Odaberite **Next** (Dalje). Započet će drugo ispiranje.

Provođenje završnog ispiranja

- 1 S pomoću sredstva Tween 20 i vode laboratorijske kvalitete pripremite svježiu otopinu za ispiranje:
 - a Dodajte 5 ml 100-postotnog sredstva Tween 20 u 45 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 10-postotnu otopinu sredstva Tween 20.
 - b Dodajte 25 ml 10-postotnog sredstva Tween 20 u 475 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 0,5-postotnu otopinu sredstva Tween 20 za ispiranje.
 - c Promiješajte je tako da je pet puta preokrenete.
- 2 Nakon dovršetka drugog ispiranja izvadite pliticu za ispiranje i bocu za ispiranje te bacite preostalu tekućinu za ispiranje.

- 3 Ponovno napunite komponente za pranje sa svježom otopinom za ispiranje:
 - a U svaki bazen plitice za ispiranje dodajte 6 ml sredstva za ispiranje.
 - b Dodajte 350 ml otopine za ispiranje u bocu za ispiranje od 500 ml.
- 4 Umetnite pliticu za ispiranje i bocu za ispiranje:
 - a Gurajte pliticu za ispiranje u hladnjak reagensa dok se ne zaustavi. Zatvorite vratašca hladnjaka reagensa.
 - b Umetnite bocu za ispiranje pa polako spustite ručku dozatora da bi se dozatori spustili u bocu za ispiranje i bocu za otpad.
 - c Zatvorite vratašca odjeljka za reagense.
- 5 Odaberite **Next** (Dalje). Započet će završno ispiranje.

Nakon ispiranja

Nakon ispiranja iskorišteni protočni članak, pliticu za ispiranje i bocu za ispiranje s ostatkom otopine za ispiranje ostavite na instrumentu.



NAPOMENA

Dozatori ostaju na donjem položaju, što je normalno. Neiskorištenu otopinu za ispiranje ostavite u plitici za ispiranje i boci za ispiranje da se dozatori ne bi osušili te da zrak ne bi ušao u sustav.

Provođenje ispiranja u stanju mirovanja

Ako instrument ne planirate upotrebljavati tijekom sljedećih sedam dana, pripremite instrument i vodove za fluide instrumenta za neaktivnost ispiranjem u stanju mirovanja. Ispiranje u stanju mirovanja provodite svakih 30 dana neaktivnosti instrumenta.

Ispiranje u stanju mirovanja traje približno dva sata. Ispiranjem se provode dva uzastopna ispiranja eventualnih ostataka reagensa i nakupljenih soli sa svih položaja. Svako ispiranje traje približno 60 minuta.

Po dovršetku ispiranja u stanju mirovanja instrument prelazi u stanje mirovanja te se na početnom zaslonu prikazuje poruka u kojoj se navodi status instrumenta. Ako je instrument u stanju mirovanja, prije pokretanja postupka sekvenciranja mora se provesti ispiranje radi održavanja.

Potrošni materijal koji mora pribaviti korisnik

- ▶ Tween 20 (Sigma-Aldrich, kataloški broj P7949)
- ▶ voda laboratorijske kvalitete

Postupak

- 1 Provjerite je li u instrument umetnut iskorišteni protočni članak.
- 2 Na početnom zaslonu odaberite **Perform Wash** (Provedi ispiranje).
- 3 Na zaslonu Wash Options (Mogućnosti ispiranja) odaberite **Perform Standby Wash** (Isperi u stanju mirovanja).
Softver će automatski podići dozatore u hladnjaku reagensa.

Provođenje prvog ispiranja

- 1 S pomoću sredstva Tween 20 i vode laboratorijske kvalitete pripremite svježju otopinu za ispiranje:

- a Dodajte 5 ml 100-postotnog sredstva Tween 20 u 45 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 10-postotnu otopinu sredstva Tween 20.
 - b Dodajte 25 ml 10-postotnog sredstva Tween 20 u 475 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 0,5-postotnu otopinu sredstva Tween 20 za ispiranje.
 - c Promiješajte je tako da je pet puta preokrenete.
- 2 Pripremite komponente za pranje sa svježom otopinom za ispiranje:
- a U svaki bazen plitice za ispiranje dodajte 6 ml sredstva za ispiranje.
 - b Dodajte 350 ml otopine za ispiranje u bocu za ispiranje od 500 ml.
- 3 Umetnite pliticu za ispiranje i bocu za ispiranje u instrument:
- a Otvorite vratašca odjeljka za reagense i vratašca hladnjaka reagensa pa izvucite iskorišteni spremnik reagensa ili pliticu za ispiranje iz hladnjaka.
 - b Gurajte pliticu za ispiranje u hladnjak reagensa dok se ne zaustavi. Zatvorite vratašca hladnjaka reagensa.
 - c Podižite ručku dozatora ispred boce PR2 i boce za otpad dok se ne blokira na mjestu pa zamijenite bocu PR2 bocom za ispiranje.



NAPOMENA

Bocu PR2 bacite nakon svake obrade. Nemojte upotrebljavati preostali PR2.

- a Uklonite bocu za otpad te njezin sadržaj na odgovarajući način odložite u otpad. Vratite bocu za otpad u odjeljak za reagense.
 - b Polako spustite ručku dozatora da bi se dozatori spustili u bocu za ispiranje i bocu za otpad.
 - c Zatvorite vratašca odjeljka za reagense.
- 4 Odaberite **Next** (Dalje). Započet će prvo ispiranje.

Provođenje drugog ispiranja

Za svaki korak ispiranja upotrebljavajte svježiu otopinu za ispiranje. Ponovnom upotrebom otopine za ispiranje iz prethodnog ispiranja može se vratiti otpad u vodove za fluide.

- 1 S pomoću sredstva Tween 20 i vode laboratorijske kvalitete na sljedeći način pripremite svježiu otopinu za ispiranje:
 - a Dodajte 5 ml 100-postotnog sredstva Tween 20 u 45 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 10-postotnu otopinu sredstva Tween 20.
 - b Dodajte 25 ml 10-postotnog sredstva Tween 20 u 475 ml vode laboratorijske kvalitete. Time ćete dobiti 0,5-postotnu otopinu sredstva Tween 20 za ispiranje.
 - c Promiješajte je tako da je pet puta preokrenete.
- 2 Nakon dovršetka prvog ispiranja izvadite pliticu za ispiranje i bocu za ispiranje te bacite preostalu tekućinu za ispiranje.
- 3 Na sljedeći način ponovno napunite komponente za pranje svježiom otopinom za ispiranje:
 - a U svaki bazen plitice za ispiranje dodajte 6 ml sredstva za ispiranje.
 - b Dodajte 350 ml otopine za ispiranje u bocu za ispiranje od 500 ml.

- 4 Na sljedeći način umetnite pliticu za ispiranje i bocu za ispiranje:
 - a Gurajte pliticu za ispiranje u hladnjak reagensa dok se ne zaustavi. Zatvorite vratašca hladnjaka reagensa.
 - b Umetnite bocu za ispiranje pa polako spustite ručku dozatora da bi se dozatori spustili u bocu za ispiranje i bocu za otpad.
 - c Zatvorite vratašca odjeljka za reagense.
- 5 Odaberite **Next** (Dalje). Započet će drugo ispiranje.

Nakon ispiranja

Nakon ispiranja iskorišteni protočni članak, pliticu za ispiranje i bocu za ispiranje s ostatkom otopine za ispiranje ostavite na instrumentu.



NAPOMENA

Dozatori ostaju na donjem položaju, što je normalno. Neiskorištenu otopinu za ispiranje ostavite u plitici za ispiranje i boci za ispiranje da se dozatori ne bi osušili te da zrak ne bi ušao u sustav.

Upravljanje datotekama

Odaberite značajku Manage Files (Upravljanje datotekama) na početnom zaslonu ako želite premještati, prenositi i brisati datoteke ili pak preimenovati listove s uzorcima na računalu instrumenta.

Brisanje datoteka

- 1 Na bilo kojoj kartici zaslona Manage Files (Upravljanje datotekama) odaberite **Browse** (Pregledaj) da biste pronašli datoteke koje su pristupačne instrumentu.
- 2 Odaberite neku od sljedećih mogućnosti:
 - ▶ Potvrdite okvir uz pojedinačne datoteke ili mape na popisu.
 - ▶ Potvrdite okvir lijevo od gumba Delete (Izbriši) da biste odabrali sve datoteke i mape s popisa. Ta je mogućnost dostupna za obrade, listove s uzorcima, manifeste, genome i recepte.
- 3 Odaberite **Delete** (Izbriši).



NAPOMENA

Naredba Delete (Izbriši) dostupna je na svim karticama osim na kartici Bundle Logs (Grupiranje zapisnika).

Premještanje mapa obrade

Naredbom Move (Premjesti) mapa obrade *kopira se* na novu lokaciju, a potom se *brise* sa stare lokacije.

- 1 Na kartici Runs (Obrade) zaslona Manage Files (Upravljanje datotekama) odaberite **Browse** (Pregledaj) da biste pronašli datoteke koje su pristupačne instrumentu.
- 2 Potvrdite okvir uz pojedinačne datoteke ili mape na popisu.
- 3 Odaberite **Move** (Premjesti).
- 4 Odaberite **Browse Network** (Pregledaj mrežu) pa odaberite novu lokaciju za datoteke ili mape.
- 5 Odaberite **OK** (U redu).

Prijenos datoteka

Naredba Upload (Prenesi) dostupna je za listove s uzorcima, manifeste, genome i recepte. Ako MiSeq nije povezan s mrežom, s pomoću te značajke datoteke možete prenijeti na računalo instrumenta s USB pogona.

- 1 Na kartici na zaslonu Manage Files (Upravljanje datotekama) odaberite **Browse** (Pregledaj) da biste pronašli datoteke koje su pristupačne instrumentu.
- 2 Odaberite **Upload** (Prenesi).
- 3 Odaberite **Browse Network** (Pregledaj mrežu) pa pronađite mjesto na USB pogonu na kojem se nalaze datoteke.
- 4 Odaberite **OK** (U redu).
Datoteka će se prenijeti u mapu navedenu u polju Directory (Direktorij).

Preimenovanje listova s uzorcima

- 1 Na kartici Sample Sheets (Listovi s uzorcima) na zaslonu Manage Files (Upravljanje datotekama) odaberite neku od sljedećih mogućnosti:
 - ▶ Potvrdite okvir uz pojedinačne listove s uzorcima.
 - ▶ Potvrdite okvir lijevo od gumba Delete (Izbriši) da biste odabrali sve listove s uzorcima na popisu.
- 2 Odaberite **Rename** (Preimenuj).
- 3 Odaberite ikonu tipkovnice pa putem zaslonske tipkovnice promijenite naziv listova s uzorcima.
- 4 Odaberite **Next** (Dalje).
- 5 Odaberite **Back** (Natrag).

Ažuriranja softvera

Ako je sustav povezan s mrežom koja ima pristup internetu, softver instrumenta možete automatski ažurirati s početnog zaslona. Možete i konfigurirati softver tako da automatski traži ažuriranja sustava BaseSpace. Informacije potražite u odjeljku *Konfiguriranje obavijesti o ažuriranjima sustava BaseSpace na stranici 14*.

Ako instrument nije povezan s mrežom koja ima pristup internetu, softver možete ažurirati ručno.

Automatsko ažuriranje softvera

Kad su dostupna ažuriranja softvera, na početnom zaslonu pojavit će se gumb **Update Available** (Dostupno je ažuriranje). U suprotnom taj gumb nije vidljiv. Da bi ta mogućnost bila omogućena, MiSeq mora biti povezan s mrežom koja ima pristup internetu.

- 1 Na početnom zaslonu odaberite **Update Available** (Dostupno je ažuriranje).
- 2 U dijaloškom okviru potvrdite naredbu za ažuriranje.
Potrebno je ponovno pokrenuti instrument. Instalacija ažuriranja automatski će započeti nakon ponovnog pokretanja.

Ručno ažuriranje softvera

S pomoću značajke za ručno ažuriranje softver za upravljanje instrumentom i softver za analizu možete ažurirati putem sučelja instrumenta MiSeq tako da pronađete lokaciju instalacijske datoteke softvera.

- 1 Na početnom zaslonu odaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).

- 2 Odaberite **Software Update** (Ažuriranje softvera).
- 3 Odaberite **Browse** (Pregledaj) da biste došli do lokacije instalacijske datoteke za novu verziju softvera.
- 4 Kad se na zaslonu prikaže put do instalacijske datoteke softvera, odaberite **Save and Update** (Spremi i ažuriraj).
- 5 U dijaloškom okviru potvrdite naredbu za ažuriranje.
Potrebno je ponovno pokrenuti instrument. Instalacija ažuriranja automatski će započeti nakon ponovnog pokretanja.

Isključivanje instrumenta

Najbolje je da instrument uvijek bude uključen. No ako je nužno isključiti instrument, s pomoću sljedećeg postupka isključite Windows te pripremite vodove za fluide.

- 1 Provedite ispiranje radi održavanja. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Provođenje ispiranja radi održavanja na stranici 38*.
- 2 Uklonite bocu za otpad te njezin sadržaj na odgovarajući način odložite u otpad. Vratite bocu za otpad u odjeljak za reagense.
- 3 Zatvorite vratašca odjeljka za reagense.
- 4 Na početnom zaslonu odaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
- 5 Odaberite **Shut Down** (Isključi).
Tom ćete naredbom isključiti softver.
- 6 Prekidač napajanja prebacite u položaj OFF (Isključeno).



NAPOMENA

Svaki put nakon isključivanja instrumenta pričekajte *minimalno* 60 sekundi prije ponovnog prebacivanja prekidača napajanja u položaj ON (Uključeno).

Dodatak A Otklanjanje poteškoća

Uvod	45
Grupiranje zapisnika radi otklanjanja poteškoća	45
Provođenje provjere sustava	46
Pauziranje ili zaustavljanje obrade	47
Ručno podizanje dozatora sa spremnika reagensa	48
Otklanjanje pogrešaka u postavljanju obrade	48
Otklanjanje pogreške zbog neuspješnog očitavanja RFID-a	49
Testiranje volumena	49
Mjerenje očekivanih volumena ispiranja	50
Rješavanje pogrešaka s temperaturom hladnjaka reagensa	50
Rješavanje pogrešaka analize softvera Local Run Manager	51
Konfiguracija postavki sustava	51

Uvod

U ovom se odjeljku opisuju uobičajeni koraci za otklanjanje poteškoća prije obraćanja službi za tehničku podršku tvrtke Illumina. Za većinu se pogrešaka na zaslonu prikazuje poruka s uputama za otklanjanje pogreške.

Ako imate tehničkih pitanja, na stranicama s podrškom za MiSeq na web-mjestu tvrtke Illumina možete pristupiti najčešćim pitanjima ili se možete prijaviti na svoj račun MyIllumina da biste pristupili biltenima za podršku.

Ako imate problema s kvalitetom ili izvedbom obrade, obratite se službi za tehničku podršku tvrtke Illumina. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Tehnička pomoć na stranici 61*.

Predstavnici službe za tehničku podršku tvrtke Illumina najčešće će radi otklanjanja poteškoća tražiti kopije datoteka specifičnih za obradu. Putem kartice Bundle Logs (Grupiranje zapisnika) na zaslonu Manage Files (Upravljanje datotekama) možete objediniti datoteke potrebne za otklanjanje poteškoća te ih komprimirati u .zip datoteku. Pročitajte odjeljak *Grupiranje zapisnika radi otklanjanja poteškoća na stranici 45*.

Grupiranje zapisnika radi otklanjanja poteškoća

Bundle Logs (Grupiranje zapisnika) značajka je kojom se datoteke grupiraju radi slanja službi za tehničku podršku tvrtke Illumina radi otklanjanja poteškoća. Na kartici Bundle Logs (Grupiranje zapisnika) na zaslonu Manage Files (Upravljanje datotekama) odaberite skupinu odnosno *grupu* datoteka. Grupa se automatski komprimira u zip datoteku.

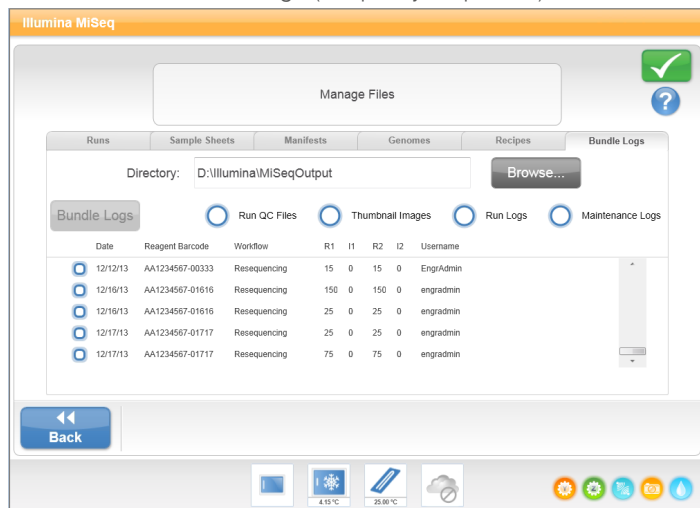
Značajkom Bundle Logs (Grupiranje zapisnika) datoteke jedne obrade grupiraju se u jednu vrstu grupe. Za svaku obradu i za svaku vrstu grupe koju zatraži služba za tehničku podršku tvrtke Illumina ponovite postupak grupiranja zapisnika.

- 1 Na zaslonu Manage Files (Upravljanje datotekama) odaberite karticu **Bundle Logs** (Grupiranje zapisnika).
- 2 Odaberite **Browse** (Pregledaj) da biste došli do mape MiSeqOutput.
- 3 Kliknite plavi okvir pokraj obrade, a zatim plavi kružić pokraj vrste grupe koju je zatražila služba za tehničku podršku tvrtke Illumina.
- 4 Odaberite **Bundle Logs** (Grupiraj zapisnike).
Otvorit će se zaslon Bundle Files (Grupiranje datoteka) s informacijama o grupi, uključujući popis pojedinačnih datoteka unutar grupe.

Dodatne informacije o pojedinačnim mapama i datotekama značajke Bundle Logs (Grupiranje zapisnika) potražite u dokumentu *MiSeq Output and Analysis Folders Quick Reference Card (Kratka referentna kartica za izlazne mape sustava MiSeq i mape analize, broj dokumenta 15034791)*.

- 5 Odaberite **Next** (Dalje).
- 6 Pronađite lokaciju na koju želite spremiti grupirane datoteke kao zip datoteku.
- 7 Odaberite **Save** (Spremi).
Kada se dovrši grupiranje datoteka, ponovno će se otvoriti kartica Bundle Logs (Grupiranje zapisnika).
- 8 Grupu zapisnika u obliku zip datoteke pošaljite službi za tehničku podršku tvrtke Illumina.

SI. 23 Kartica Bundle Logs (Grupiranje zapisnika)



Provođenje provjere sustava

Zaslonski System Check (Provjera sustava) najčešće se upotrebljava za povezivanje s predstavnikom službe za tehničku podršku tvrtke Illumina tijekom sesije pomoći uživo. Ta značajka nije potrebna tijekom uobičajenog rada ni tijekom održavanja sustava.

Prije obraćanja službi za tehničku podršku tvrtke Illumina mogu se provesti neke provjere sustava, kao što je testiranje volumena. Testiranjem volumena provjerava se stanje sustava fluida tako što se procjenjuje volumen protoka dok mjehurići prolaze pokraj senzora. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Testiranje volumena* na stranici 49.

- 1 Na početnom zaslonu odaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
- 2 Odaberite **System Check** (Provjera sustava).
- 3 Učinite nešto od sljedećeg:
 - ▶ Odaberite pojedinačne testove koje želite provesti.
 - ▶ Odaberite **Select All** (Odaberi sve) da biste proveli sve testove.
- 4 Odaberite **Next** (Dalje).
Kada se testiranje dovrši, rezultati testiranja prikazuju se na zaslonu.
- 5 **[neobavezno]** Odaberite **Show Details** (Pokaži pojedinosti) da biste pogledali sažetak rezultata na korisničkom sučelju softvera.
- 6 **[neobavezno]** Odaberite **Export Results** (Izvezi rezultate) da biste rezultate kao *.csv datoteku izvezli na USB pogon.
- 7 Odaberite **Done** (Gotovo).

Pauziranje ili zaustavljanje obrade

MiSeq je osmišljen tako da obradu dovrši od početka do kraja bez intervencije korisnika. No obradu možete pauzirati ili zaustaviti putem zaslona Sequencing (Sekvenciranje).

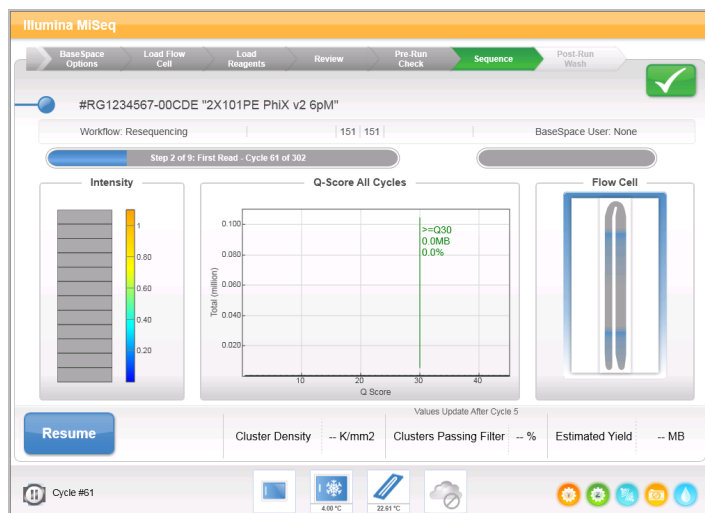
Pauziranje obrade

Obradu možete privremeno pauzirati prije dovršetka. Obrada se, primjerice, može pauzirati ako sumnjate da je boca za otpad puna. Pauzirane se obrade mogu nastaviti.

Kad odaberete **Pause** (Pauziraj), dovršava se trenutna naredba, a potom se obrada pauzira i protočni se članak postavlja u sigurno stanje.

Da biste obradu pauzirali sa zaslona Sequencing (Sekvenciranje), odaberite **Pause** (Pauziraj). Natpis na gumbu promijenit će se u Resume (Nastavi). Kada želite nastaviti obradu, odaberite **Resume** (Nastavi).

SI. 24 Zaslona Sequence (Sekvenca) pauzirane obrade

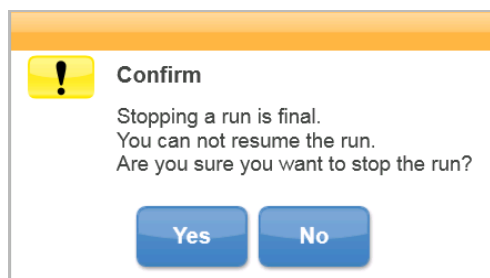


Zaustavljanje obrade

Obradu tijekom sekvenciranja možete zaustaviti i prije dovršetka obrade s pomoću gumba **Stop** (Zaustavi) na zaslonu Sequencing (Sekvenciranje). Obradu možete zaustaviti ako je pogrešno postavljena, ako je kvaliteta podataka loša ili ako dođe do kvara hardvera.

Kada se obrada zaustavi, trenutačna se naredba ne dovršava, a nosač protočnog članka pomiče se u prednji položaj. Softver za analizu u stvarnom vremenu nastavlja analizu zadnjeg dovršenog ciklusa.

SI. 25 Zaustavljanje obrade



Zaustavljanje obrade ne može se poništiti. Zaustavljena obrada ne može se nastaviti. Jedina je mogućnost prijeći na ispiranje instrumenta.

Ručno podizanje dozatora sa spremnika reagensa

Ako se obrada neočekivano prekine ili ako tijekom obrade dođe do pogreške, dozatori sa spremnika reagensa možda se neće automatski podići. Da biste izvadili spremnik reagensa, ručno podignite dozatore sa spremnika reagensa.

- 1 Na početnom zaslonu odaberite **Perform Wash** (Provedi ispiranje).
- 2 Odaberite **Raise Sippers** (Podigni dozatore).
- 3 Izvadite spremnik reagensa.

Otklanjanje pogrešaka u postavljanju obrade

Ako neka od provjera prije obrade ne uspije, pokraj te stavke prikazat će se crvena ikona **X**. Na zaslonu će se prikazati poruka s opisom pogreške i uputama za njezino otklanjanje.

Pogreška	Radnja
X Free Disk Space (Slobodan prostor na disku)	Ako nema dovoljno prostora na disku, prikazat će se poruka u kojoj se navodi koliko je prostora na disku potrebno. S pomoću značajke Manage Files (Upravljanje datotekama) oslobodite potrebnu količinu prostora na računalu instrumenta.
X Network Connection Active (Aktivna mrežna veza)	Provjerite je li mrežni kabel priključen u instrument. Ako se time ne uspostavi mrežna veza, na zaslonu Manage Instrument (Upravljanje instrumentom) odaberite Reboot (Ponovno pokreni) da biste ponovno pokrenuli softver. Ako se veza i dalje ne može uspostaviti, na zaslonu Manage Instrument (Upravljanje instrumentom) odaberite Shut Down (Isključi) pa isključite instrument putem prekidača napajanja. Pričekajte najmanje 60 sekundi, a potom uključite instrument i pokrenite softver.
X Primary Analysis Ready (Spremnost primarne analize)	Nije dovršena primarna analiza prethodne obrade. Zадano je vrijeme za dovršetak primarne analize 1 sat i na zaslonu se prikazuje brojač vremena. Možete pričekati 1 sat ili odabrati Terminate Analysis (Prekini analizu). Zaustavit će se sekundarna analiza svih nedovršenih ciklusa.

Otklanjanje pogreške zbog neuspješnog očitavanja RFID-a

Ako sustav ne može očitati RFID potrošnog materijala, na web-mjestu tvrtke Illumina možete nabaviti privremeni kod za zaobilaženje. Privremeni kod za zaobilaženje istječe nakon sedam dana.

- 1 Prije nastavka obavezno ponovno pokušajte očitati RFID. Ako i drugi put ne uspije očitavanje RFID-a, odaberite **Enter Code** (Unos koda).
- 2 S računala koje ima pristup internetu otvorite my.illumina.com pa s alatne trake na vrhu stranice odaberite **Sign In** (Prijava).
- 3 Prijavite se na račun za MyIllumina.
Vaše ime zamijenit će gumb Sign In (Prijava) na alatnoj traci.
- 4 Prijedite pokazivačem preko imena pa odaberite **Account** (Račun). U stupcu **My Tools** (Moji alati) kliknite **MiSeq Self-Service** (Samoposlužne usluge za MiSeq).
- 5 Na stranici MiSeq Self-Service (Samoposlužne usluge za MiSeq) unesite **MiSeq serial number** (Serijski broj instrumenta MiSeq).
- 6 Na padajućem izborniku Type of Override Code (Vrsta koda za nadjačavanje) odaberite **RFID Override** (Nadjačavanje RFID-a).
- 7 Da biste generirali kod, odaberite **Get Code** (Dohvaćanje koda).
- 8 Vratite se na korisničko sučelje MCS-a pa odaberite **Enter Code** (Unesite kod).
- 9 S pomoću zaslonske tipkovnice unesite privremeni kod za zaobilaženje pa odaberite **Next** (Dalje).
- 10 Unesite broj crtičnog koda protočnog članka, boce PR2 ili spremnika reagensa.

Potrošni materijal	Položaj broja crtičnog koda
Protočni članak	Iznad crtičnog koda na naljepnici spremnika protočnog članka. Brojevi crtičnog koda protočnih članaka započinju slovom A (standardni), G (mikro) odnosno D (nano). Primjer: A0E61
Boca PR2	Ispod crtičnog koda na naljepnici boce PR2. Primjer: MS0011881-PR2
Spremnik reagensa	Ispod crtičnog koda na naljepnici spremnika reagensa. Primjer: MS0010744-300

- 11 Ako unosite kod za zaobilaženje za spremnik reagensa, unesite broj verzije kompleta. Odaberite **Enter Reagent Kit Barcode** (Unesite crtični kod kompleta reagensa) da biste ručno unijeli broj crtičnog koda spremnika reagensa i broj verzije kompleta.

OPREZ

Ako unesete pogrešnu verziju kompleta reagensa, to može negativno utjecati na podatke sekvenciranja.

- 12 Odaberite **Enter** (Unos).

Testiranje volumena

Zapreka u vodovima za fluide može uzrokovati slab dovod reagensa te utjecati na rezultate sekvenciranja. Ako sumnjate na zapreku u vodovima za fluide, testirajte volumen.

Testiranjem volumena provjerava se stanje sustava fluida tako što se procjenjuje volumen između mjehurića koji prolaze pokraj senzora. Da biste testirali volumen, u instrument moraju biti umetnuti plitica za ispiranje i boca za ispiranje s vodom laboratorijske kvalitete te iskorišten protočni članak. Da biste proveli testiranje, slijedite upute na zaslonu.

- 1 Provjerite je li u instrument umetnut iskorišteni protočni članak.
- 2 Na početnom zaslonu odaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
- 3 Odaberite **System Check** (Provjera sustava).
- 4 Odaberite **Conduct Volume Test** (Provedi testiranje volumena), a potom **Next** (Dalje).
- 5 Svaki bazen plitice za ispiranje ispunite sa 6 ml vode laboratorijske kvalitete.
- 6 Bocu za ispiranje od 500 ml napunite s 350 ml vode laboratorijske kvalitete.
- 7 Umetnite pliticu za ispiranje i bocu za ispiranje u instrument.
 - a Otvorite vratašca odjeljka za reagense i vratašca hladnjaka reagensa pa gurajte pliticu za ispiranje u hladnjak reagensa dok ne zastane. Zatvorite vratašca hladnjaka reagensa.
 - b Uklonite bocu za otpad te njezin sadržaj na odgovarajući način odložite u otpad. Vratite bocu za otpad u odjeljak za reagense.
 - c Polako spustite ručku dozatora da bi se dozatori spustili u bocu za ispiranje i bocu za otpad.
- 8 Odaberite **Next** (Dalje).
 Nakon dovršetka testiranja volumena na zaslonu se prikazuju rezultati.
 Ako testiranje nije bilo uspješno, provedite ispiranje radi održavanja. Pročitajte odjeljak *Provođenje ispiranja radi održavanja na stranici 38*.
- 9 Nakon dovršetka ispiranja radi održavanja, ponovite testiranje volumena.

Mjerenje očekivanih volumena ispiranja

Mjerenjem očekivanih volumena ispiranja potvrđuje se učinkoviti rad sustava fluida.

- 1 Prije započinjanja ispiranja ispraznite bocu za otpad.
- 2 Po dovršetku ispiranja izmjerite volumen ispiranja u boci za otpad.

Vrsta ispiranja	Očekivani volumen ispiranja
Ispiranje nakon obrade	17,25 ml
Ispiranje nakon obrade koje obuhvaća ispiranje voda predložaka	25,5 ml
Ispiranje u stanju mirovanja	46 ml
Ispiranje radi održavanja	51,75 ml

Rješavanje pogrešaka s temperaturom hladnjaka reagensa

Potrebni je temperaturni raspon hladnjaka reagensa od 2 °C do 11 °C. Indikator senzora pokazuje temperaturu hladnjaka reagensa. Pročitajte odjeljak *Pokazatelji senzora na stranici 7*.

Ako se pojavi poruka o pogrešci da temperatura hladnjaka nije u navedenom temperaturnom rasponu, obratite se tehničkoj podršci tvrtke Illumina.

Dodatne informacije o hladnjaku reagensa potražite u odjeljku *Odjeljak za reagense na stranici 4*.

Rješavanje pogrešaka analize softvera Local Run Manager

Informacije o rješavanju problema povezanih s pogreškama analize potražite u dokumentu *Local Run Manager Software Guide (Priručnik za upotrebu softvera Local Run Manager, broj dokumenta 1000000002702)*. U njemu su navedene upute za ponovno pokretanje analize.

Konfiguracija postavki sustava

MCS sadrži nekoliko zaslona s kojih se pristupa naredbama za konfiguriranje sustava. Postavke sustava najčešće se konfiguriraju tijekom instalacije sustava MiSeq.

Konfiguriranje postavki IP-a i DNS-a

Konfigurirajte IP adresu i adrese DNS poslužitelja ako je to potrebno zbog promjene mreže ili ustanove.

- 1 Na početnom zaslonu odaberite **Manage Instrument** (Upravljanje instrumentom).
- 2 Odaberite **System Settings** (Postavke sustava).
 - ▶ Odaberite **Obtain an IP address automatically** (Automatski dohvati IP adresu) ili **Use the following IP address** (Upotrebljavaj sljedeću IP adresu).
Ako odaberete **Use the following IP address** (Upotrebljavaj sljedeću IP adresu), unesite IP adresu, masku podmreže i zadani pristupnik.
 - ▶ Odaberite **Obtain DNS address automatically** (Automatski dohvati DNS adresu) ili **Use the following DNS server addresses** (Upotrebljavaj sljedeće adrese DNS poslužitelja).
Ako odaberete **Use the following DNS server addresses** (Upotrebljavaj sljedeće adrese DNS poslužitelja), unesite adresu preferiranog i zamjenskog DNS poslužitelja.
- 3 Odaberite **Save and Continue** (Spremi i nastavi).

Dodatak B Izlazne datoteke i mape

Mape obrade	53
Sadržaj mape MiSeqOutput	53
Mape i datoteke za RTA	55

Mape obrade

Svakom obradom na instrumentu MiSeq generiraju se 3 mape obrade, a svaka od njih ima specifičnu svrhu:

- ▶ **D:\Illumina\MiSeqTemp** – kad započne obrada, na lokalni disk računala instrumenta zapisuje se privremena mapa obrade koja služi kao radno područje za MCS i RTA. Mapi MiSeqTemp ne trebate pristupati. Sadržaj te mape briše se nakon 7 dana.
- ▶ **D:\Illumina\MiSeqOutput** – RTA kopira datoteke iz mape MiSeqTemp u mapu MiSeqOutput. Kad se generiraju datoteke primarne analize, RTA datoteke kopira natrag u mapu MiSeqTemp te popunjava mapu MiSeqAnalysis. Fokusrane slike i minijature slika ne kopiraju se u mapu MiSeqAnalysis. Pročitajte odjeljak *Mape i datoteke za RTA na stranici 55*.
- ▶ Lokaciju izlazne mape možete promijeniti u polju Output Folder (Izlazna mapa) na zaslonu Run Options (Mogućnosti obrade). Dodatne informacije potražite u odjeljku *Postavljanje zadanih lokacija mapa na stranici 15*.
- ▶ **D:\Illumina\MiSeqAnalysis** – kad se dovrši analiza RTA, Local Run Manager pristupa mapi MiSeqAnalysis na lokalnom disku instrumenta da bi započeo sekundarnu analizu. Sve datoteke zapisane u mapu MiSeqAnalysis kopiraju se natrag u mapu MiSeqOutput. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Sadržaj mape MiSeqOutput na stranici 53*.

Ako za analizu upotrebljavate BaseSpace bez lokalne replikacije analize, mapa MiSeqAnalysis na lokalnom disku instrumenta bit će prazna.

Naziv korijenske mape

Naziv korijenske mape sadržava datum obrade, broj instrumenta te protočni članak upotrijebljen za obradu.

Naziv mape po zadanim postavkama izgleda ovako:

GGMMDD_<BrojInstrumenta>_<BrojObrade>_<CrtičniKodProtočnogČlanka>

Broj obrade povećava se za jedan nakon svake obrade na tom instrumentu.

Sadržaj mape MiSeqOutput

Nakon što RTA dovrši analizu, mapa MiSeqOutput popunjava se datotekama koje su potrebne za sekundarnu analizu. Nakon dovršetka sekundarne analize mape MiSeqOutput i MiSeqAnalysis izgledaju identično, osim što mapa MiSeqOutput sadrži 2 podmape za slikovne datoteke: Images i Thumbnail_Images. Te podmape nisu potrebne za sekundarnu analizu.

Datoteke

U izlaznu mapu i mapu analize kopiraju se sljedeće datoteke:

- ▶ **SampleSheet.csv** – sadrži parametre za obradu i naknadnu analizu. Na početku obrade u korijensku mapu kopira se list s uzorcima te mu se naziv mijenja u SampleSheet.csv. Kopije se zapisuju u mapu Data\Intensities and Data\Intensities\BaseCalls.
- ▶ **runParameters.xml** – sadrži sažetak parametara obrade te informacije o komponentama obrade, kao što su RFID protočnog članka te reagensa povezanih s obradom.

- ▶ **RunInfo.xml** – sadrži podatke o obradi više razine, kao što su broj očitavanja i ciklusa u postupku sekvenciranja te informaciju o tome je li očitavanje indeksirano.

Mape

Mape koje se kopiraju u izlazne mape i mape analize obuhvaćaju sljedeće mape generirane tijekom postupka sekvenciranja:

- ▶ **<naziv mape obrade>\Config** – sadrži konfiguracijske datoteke za obradu.
- ▶ **<naziv mape obrade>\Data** – sadrži podmape Intensities, BaseCalls i Alignment. Podaci koje generira Local Run Manager nalaze se u podmapu Alignment.
- ▶ **<naziv mape obrade>\Data\RTA Logs** – sadrži datoteke zapisnika u kojima je opisan svaki korak koji RTA provede za svako očitavanje.
- ▶ **<naziv mape obrade>\Data\Intensities\BaseCalls** – sadrži podmape s datotekama očitanih baza (*.bcl), datotekama matrice te datotekama za određivanje faze. Local Run Manager u tu mapu zapisuje FASTQ datoteke tijekom sekundarne analize. Dodatne informacije potražite u dokumentu *Local Run Manager Software Guide (Priručnik za upotrebu softvera Local Run Manager, broj dokumenta 1000000002702)*.
- ▶ **<naziv mape obrade>\Recipe** – sadrži recept koji se upotrebljava za obradu.
- ▶ **<naziv mape obrade>\Logs** – sadrži datoteke zapisnika u kojima je opisan svaki korak koji instrument provede za svaki ciklus.
- ▶ **<naziv mape obrade>\InterOp** – sadrži binarne datoteke koje Sequencing Analysis Viewer (SAV) upotrebljava za sažimanje raznih metrika primarne analize, kao što su gustoća klastera, intenziteti, ocjene kvalitete te ukupna kvaliteta obrade.

Sve ostale datoteke i mape koje se stvaraju u privremenoj mapi obrade ne kopiraju se u izlazne mape i mape analize. Među njima su privremene datoteke koje nisu potrebne za analizu ni otklanjanje poteškoća.

Local Run Manager tijekom sekundarne analize dodaje i druge mape, kao što je mapa Alignment. Dodatne informacije potražite u dokumentu *Local Run Manager Software Guide (Priručnik za upotrebu softvera Local Run Manager, broj dokumenta 1000000002702)*.

Mape i datoteke za RTA

U tablici u nastavku opisuju se mape i datoteke koje generira analiza u stvarnom vremenu (RTA) tijekom primarne analize. Mnoge od tih datoteka softver Local Run Manager upotrebljava za sekundarnu analizu.

Ključna datoteka	Podmapa	Opis
RTAComplete.txt	Korijenska mapa	Datoteka markera koja se generira po dovršetku analize očitanih baza. Prisutnost te datoteke aktivira pokretanje sekundarne analize.
SampleSheet.csv	Korijenska mapa	Datoteka se prije obrade očitava i kopira u mapu obrade te se poslije upotrebljava za sekundarnu analizu.
RunInfo.xml	Korijenska mapa	Određuje granice očitavanja (uključujući očitavanja indeksa) te tablicu kvalitete odabranu za obradu.
*.bcl datoteke	Data\ Intensities\BaseCalls\ L001\CX.X	Svaka *.bcl datoteka sadrži RTA-ovo očitavanje baza i rezultate ocjenjivanja kvalitete baza za 1 ciklus, 1 pločicu.
*.stats datoteke	Data\ Intensities\BaseCalls\ L001\CX.X	*.stats datoteke sadrže statističke podatke o RTA-ovu očitavanju baza za određeni ciklus/pločicu.
*.filter datoteke	Data\ Intensities\BaseCalls	*.filter datoteke sadrže rezultate filtriranja po pločici.
*.txt	Data\RTALogs	Datoteke zapisnika primarne analize.
*.cif datoteke	Data\ Intensities\L001\CX.X	Svaka binarna *.cif datoteka sadrži RTA-ove rezultate analize slika za 1 ciklus, 1 pločicu. Dodatne informacije potražite u odjeljku Numeriranje pločica protočnog članka na stranici 56 .
*.locs datoteke	Data\ Intensities\BaseCalls\ L001	Bilježi koordinate klastera. Svaka *.locs datoteka predstavlja 1 pločicu.
*.jpg datoteke	Thumbnail_Images\ L001\CX.X	Minijature slika koje se generiraju za svaki ciklus i bazu, a mogu se upotrebljavati za otklanjanje poteškoća s obradom. Te datoteke služe za analizu slika te se ne kopiraju u mapu Analysis. Informacije o nazivima slikovnih datoteka potražite u odjeljku Numeriranje pločica protočnog članka na stranici 56 .

Pločice protočnog članka

Tijekom postupka sekvenciranja snimaju se slike protočnog članka na malim područjima snimanja koja se nazivaju pločice. Svi protočni članci MiSeq imaju jedan kanal, ali broj pločica ovisi o vrsti protočnog članka koji upotrebljavate.

Protočni članak	Komplet reagensa MiSeq	Pločice	Površina snimanja	Ukupni broj snimljenih pločica
Standardni protočni članak	Kompleti reagensa MiSeq, v3	19 pločica	Gornja i donja	Ukupno 38 pločica
Protočni članak PGS	Komplet reagensa MiSeq v3-PGS	19 pločica	Gornja i donja	Ukupno 38 pločica
Standardni protočni članak	Kompleti reagensa MiSeq, v2	14 pločica	Gornja i donja	Ukupno 28 pločica
Mikro protočni članak	Mikro kompleti reagensa MiSeq, v2	4 pločice	Gornja i donja	Ukupno 8 pločica
Nano protočni članak	Nano kompleti reagensa MiSeq, v2	2 pločice	Samo gornja	Ukupno 2 pločice

Kad se pločice snimaju tijekom postupka sekvenciranja, za svaku se pločicu generira 1 izlazna datoteka. Dodatne informacije potražite u odjeljku *Numeriranje pločica protočnog članka na stranici 56*.

Numeriranje pločica protočnog članka

Kako se tijekom postupka sekvenciranja snimaju pločice, za svaku se pločicu generira izlazna datoteka čiji je naziv broj pločice u četveroznamenkastom obliku. Protočni članci, osim nano protočnog članka, snimaju se s gornje i donje površine. Izlazne datoteke za svaku pločicu nalaze se u mapi obrade u podmapi Data\Intensities\BaseCalls\L001.

Protočni članak	Komplet reagensa MiSeq	Pločice	Površina snimanja	Nazivi slikovnih datoteka
Standardni protočni članak Protočni članak PGS	Kompleti reagensa MiSeq, v3	1 – 19	Gornja	od 1101 do 1119
		1 – 19	Donja	od 2101 do 2119
Standardni protočni članak	Kompleti reagensa MiSeq, v2	1 – 14	Gornja	od 1101 do 1114
		1 – 14	Donja	od 2101 do 2114
Mikro protočni članak	Mikro kompleti reagensa MiSeq, v2	1 – 4	Gornja	od 1101 do 1104
		1 – 4	Donja	od 2101 do 2104
Nano protočni članak	Nano kompleti reagensa MiSeq, v2	1 – 2	Samo gornja	od 1101 do 1102

Kazalo

A

analiza
 mogućnosti 7
analiza u stvarnom vremenu 1, 5
 generiranje predložaka 31
 mapa obrade 53
 rezultati 55
ažuriranje softvera 14, 43

B

BaseSpace
 ažuriranja 14
 povezivanje 7
 veza 7
BaseSpace Onsite
 lokacija poslužitelja 13
 povezivanje 7
boca za otpad 4
brisanje datoteka i mapa 42

C

ciklusi u očitavanju 17
CompletedJobInfo.xml 8

D

datoteka manifesta
 definicija 5
 kopiranje na instrument 42
dokumentacija 1, 61
duljina očitavanja 17
duljina očitavanja 17

F

fluidi
 ispiranje 38, 40
 otklanjanje poteškoća 49

G

generiranje klastera 19
generiranje predložaka 8, 31
grupiranje zapisnika 42-43, 45

H

hladnjak reagensa, temperatura 7
hvataljka za protočni članak 3

I

ikone
 pokazatelji aktivnosti 6
 senzori 7
ikone, treperave 6
InterOp datoteke 5
IP adresa 51
isključivanje instrumenta 44
ispiranja
 koristi 31
 nakon obrade 31
 očekivani volumeni 50
 održavanje 38
 postavke ispiranja nakon obrade 13
 priprema za isključivanje 44
 pripremanje za neaktivnost 40
 stanje mirovanja 40
ispiranje nakon obrade 31
ispiranje radi održavanja 38
ispiranje u stanju mirovanja 40
ispiranje voda predložaka 31

K

komponente
 odjeljak za protočni članak 2-3
 odjeljak za reagense 2, 4
 optički modul 2
 protočni članak 9, 55
 spremnik reagensa 10
kontrolni softver 5
kopiranje datoteka i mapa 42

L

list s uzorcima
 definicija 5
 kopiranje na instrument 42
 u mapu obrade 55
Local Run Manager 1
pregled 8

lokacije mapa
za trenutačnu obradu 29
zadane postavke 15

M

mapa InterOp 54
mapa obrade
definicija 5
mape obrade
datoteke primarne analize 55
naziv 53
sadržaj 53
temp, izlaz, analiza 53
upravljanje 42
mogućnosti obrade 13-15
mrežne postavke 51

N

nadzor obrade 29
naziv domene 51
numeriranje pločica 56

O

obuka 1
odjeljak za protočni članak 2-3
odjeljak za reagense 2, 4
optički modul 2
otklanjanje poteškoća
datoteke specifične za obradu 45
fluidi 49
grupiranje zapisnika 42-43, 45
RFID 49

P

pauziranje obrade 47
podrška korisnicima 61
pogreške 6
pokazatelji aktivnosti 6
pokazatelji senzora 7
pomoć, tehnička 61
postavke sustava 51
potrošni materijal 15
voda laboratorijske kvalitete 16
PR2, umetanje 27
premještanje datoteka i mapa 42
priprema instrumenta za neaktivnost 40

prostor na disku
provjera 9
protočni članak
boja čepa 10
čišćenje 24
dodjela slova 49
jednokanalni 8
numeriranje pločica 56
pločice 55
pregled 9

R

reagensi
u kompletu 9
recepti, upravljanje 42
reference genoma 42
referentni genom
oblik datoteke 5
RFID
otklanjanje poteškoća 49
PR2 27
praćenje 1
spremnik reagensa 28
RTAcomplete.txt 55
ručka dozatora 4
RunInfo.xml 53, 55
runParameters.xml 53

S

samoposlužne usluge za MiSeq 49
sekundarna analiza 8
sekvenciranje 19
senzor vratašca protočnog članka 7
Sequencing Analysis Viewer 8, 29
Servis za praćenje Illumina Proactive 14
smjernice za vodu laboratorijske kvalitete 16
softver
ažuriranje 43
provjera prostora na disku 9
trajanje obrade 17
softver BlueFuse Multi 7, 13
softverski paket 5
spremnik reagensa 10
otapanje 20
provjera 21
sadržaj 11
status.xml 55
stranice podrške 1

T

- tehnička pomoć 61
- testiranje volumena 49
- tijek rada 19
 - trajanje obrade 17
- tijek rada VeriSeq PGS
 - lokalna replikacija analize 13
 - protočni članak 10
 - sekundarna analiza 7
 - učestalost održavanja 37
- tijek rada za analizu
 - definicija 5
- trajanje obrade 17
- treperave ikone 6

U

- umetanje reagensa
 - PR2 27
 - spremnik 28
- univerzalni servis za kopiranje 5
- upozorenja 6
- upozorenja e-poštom 14

V

- volumeni ispiranja 50

Z

- zaslon sequencing 29
- zaslone za postavljanje obrade 22
- zaustavljanje obrade 48

Tehnička pomoć

Ako vam je potrebna tehnička pomoć, obratite se službi za tehničku podršku tvrtke Illumina.

Web-mjesto: www.illumina.com
Adresa e-pošte: techsupport@illumina.com

Telefonski brojevi službe za podršku korisnicima tvrtke Illumina

Regija	Besplatni telefon	Regionalno
Sjeverna Amerika	+1.800.809.4566	
Australija	+1.800.775.688	
Austrija	+43 800006249	+43 19286540
Belgija	+32 80077160	+32 34002973
Danska	+45 80820183	+45 89871156
Finska	+358 800918363	+358 974790110
Francuska	+33 805102193	+33 170770446
Hong Kong	800960230	
Irska	+353 1800936608	+353 016950506
Italija	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800.111.5011	
Kina	400.066.5835	
Nizozemska	+31 8000222493	+31 207132960
Njemačka	+49 8001014940	+49 8938035677
Norveška	+47 800 16836	+47 21939693
Novi Zeland	0800.451.650	
Singapur	+1.800.579.2745	
Španjolska	+34 911899417	+34 800300143
Švedska	+46 850619671	+46 200883979
Švicarska	+41 565800000	+41 800200442
Tajvan	00806651752	
Velika Britanija	+44 8000126019	+44 2073057197
Ostale države	+44.1799.534000	

Sigurnosno-tehnički listovi – dostupni su na web-mjestu tvrtke Illumina na adresi support.illumina.com/sds.html.

Dokumentacija o proizvodima – dostupna je za preuzimanje u PDF obliku s web-mjesta tvrtke Illumina. Na adresi support.illumina.com odaberite proizvod, a zatim **Documentation & Literature** (Dokumentacija i literatura).



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 SAD

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (izvan Sjeverne Amerike)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Samo za istraživačke svrhe. Nije za upotrebu u dijagnostičkim postupcima.

© 2018. Illumina, Inc. Sva prava pridržana.

illumina®