



Niniejszy dokument oraz jego treść stanowią własność firmy Illumina, Inc. oraz jej podmiotów zależnych („Illumina”) i są przeznaczone wyłącznie do użytku zgodnego z umową przez klienta firmy w związku z użytkowaniem produktów opisanych w niniejszym dokumencie, z wyłączeniem innych celów. Niniejszy dokument oraz jego treść nie będą wykorzystywane ani rozpowszechniane do innych celów i/lub publikowane w inny sposób, ujawniane ani kopiowane bez pisemnej zgody firmy Illumina. Firma Illumina na podstawie niniejszego dokumentu nie przenosi żadnych licencji podlegających przepisom w zakresie patentów, znaków towarowych czy praw autorskich ani prawu powszechnemu lub prawom pokrewnym osób trzecich.

W celu zapewnienia właściwego i bezpiecznego użytkowania produktów opisanych w niniejszym dokumencie podane instrukcje powinny być ściśle przestrzegane przez wykwalifikowany i właściwie przeszkolony personel. Przed rozpoczęciem użytkowania tych produktów należy zapoznać się z całą treścią niniejszego dokumentu.

NIEZAPOZNANIE SIĘ LUB NIEDOKŁADNE PRZESTRZEGANIE WSZYSTKICH INSTRUKCJI PODANYCH W NINIEJSZYM DOKUMENCIE MOŻE SPOWODOWAĆ USZKODZENIE PRODUKTÓW LUB OBRAŻENIA CIAŁA UŻYTKOWNIKÓW LUB INNYCH OSÓB ORAZ USZKODZENIE INNEGO MIENIA, A TAKŻE SPOWODUJE UNIEWAŻNIENIE WSZELKICH GWARANCJI DOTYCZĄCYCH PRODUKTÓW.

FIRMA ILLUMINA NIE PONOSI ODPOWIEDZIALNOŚCI ZA NIEWŁAŚCIWE UŻYTKOWANIE PRODUKTÓW (W TYM ICH CZĘŚCI I OPROGRAMOWANIA) OPISANYCH W NINIEJSZYM DOKUMENCIE.

© 2020 Illumina, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

Wszystkie znaki towarowe są własnością firmy Illumina, Inc. lub ich odpowiednich właścicieli. Szczegółowe informacje na temat znaków towarowych można znaleźć na stronie [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Historia wersji

Dokument	Data	Opis zmiany
Nr dokumentu: 1000000036024, wersja 07	Kwiecień 2020 r.	Dodano informacje o zawartości i przechowaniu ośmiopaków. Zaktualizowano objętości biblioteki i buforu RSB w instrukcjach rozcieńczania.
Nr dokumentu: 1000000036024, wersja 06	Kwiecień 2020 r.	Zaktualizowano opisy oprogramowania dotyczące oprogramowania sterującego iSeq w wer. 2.0, które obsługuje odczynnik iSeq 100 i1 w wer. 2. Odczynnik iSeq 100 i1 zastąpiono następującymi zestawami: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Illumina, nr kat. 20031371 — odczynnik iSeq 100 i1 w wer. 2.</li> <li>• Illumina, nr kat. 20021534 — odczynnik iSeq 100 i1 w wer. 2 (czteropak).</li> </ul> Dodano informacje dotyczące zgodności oprogramowania i odczynników. Dodano stężenia ładowania dla kasety iSeq 100 i1 w wer. 2. Dodano instrukcje rozcieńczania bibliotek Nextera XT DNA. Dodano symbol wskazujący odpowiednią orientację kasety podczas przechowywania. Wydłużono do 1 tygodnia maksymalny czas rozmrażania kasety w temperaturze od 2°C do 8°C. Zwiększono do 130 maksymalną liczbę użyć elementów testowych wielokrotnego użytku. Zmieniono zalecaną domieszkę kontroli PhiX dla bibliotek o niskim zróżnicowaniu do 10%. Zaktualizowano ilustracje, tak że przedstawiają kasetę iSeq 100 i1 w wer. 2. Zaktualizowano instrukcje instalacji aktualizacji oprogramowania o informacje dotyczące edytora rejestru. Zaktualizowano informacje dotyczące zaawansowanej wymiany: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dodano schemat przedstawiający proces.</li> <li>• Wymieniono dokumenty niezbędne do wykonania zwrotu.</li> <li>• Objąsnił planowanie odbioru przesyłki.</li> <li>• Podano, że laboratoria o 2. lub 3. poziomie bezpieczeństwa biologicznego mogą wymagać dodatkowego odkażania.</li> </ul> Wymagania dotyczące hasła i zasady ograniczeń oprogramowania (SRP) przeniesiono do <i>Przewodnika dotyczącego przygotowywania miejsca instalacji sekwenatora iSeq 100 (nr dokumentu: 1000000035337)</i> .

Dokument	Data	Opis zmiany
Nr dokumentu: 1000000036024, wer. 05	Marzec 2019 r.	<p>Zaktualizowano opisy oprogramowania dotyczące oprogramowania sterującego iSeq w wer. 1.4:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Zaktualizowano instrukcje dotyczące konfigurowania ustawień systemu, co również obejmowało przeniesienie i zmianę nazw niektórych elementów interfejsu użytkownika.</li> <li>• Dodano opisy danych % Clusters PF (% klastrów PF) i %Occupancy (% udziału), które pojawiają się na ekranie Sequencing (Sekwencjonowanie).</li> <li>• Zezwolono na używanie mapowanych lokalizacji napędów sieciowych dla arkuszy próbek i folderów wyjściowych.</li> <li>• Wskazano, że oprogramowanie automatycznie zmienia nazwy arkuszy próbek na <b>SampleSheet.csv</b>.</li> </ul> <p>Dodano łącza do następujących stron:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• The iSeq 100 System Sample Sheet Template for Manual Mode (Szablon arkusza próbek systemu iSeq 100 do pracy w trybie ręcznym).</li> <li>• Strony pomocy technicznej oprogramowania do konwersji bcl2fast.</li> </ul> <p>Dodano objętości 1 nM kontroli 100% PhiX i bibliotek AmpliSeq Library PLUS for Illumina do przygotowania.</p> <p>Dodano instrukcje przenoszenia repozytorium genomów referencyjnych oprogramowania Local Run Manager do lokalizacji innej niż dysk C w przypadku przywracania ustawień fabrycznych systemu.</p> <p>Zwiększono maksymalną liczbę zalecanych cykli odczytów indeksu Read 1 (Odczyt 1) i Read 2 (Odczyt 2) do 10 cykli na każdy odczyt.</p> <p>Zwiększono liczbę cykli obsługiwanych przez kasetę do 322.</p> <p>Utworzono odniesienie do dokumentu <i>Cluster Density Optimization Guide (Przewodnik po optymalizacji gęstości klastra)</i> (dokument nr 1000000071511), który zawiera szczegółowe informacje na temat optymalizacji stężenia ładowania.</p>
Nr dokumentu: 1000000036024, wer. 05	Marzec 2019 r.	<p>Wyjaśniono, że kasetka rozmrażana w kąpielii wodnej musi być przechowywana w temperaturze od -25°C do -15°C przez co najmniej jedną dobę.</p> <p>Skorygowano nazwę „AmpliSeq for Illumina Library PLUS” na „AmpliSeq Library PLUS for Illumina”.</p>

Dokument	Data	Opis zmiany
Nr dokumentu: 1000000036024, wer. 04	Październik 2018 r.	<p>Dodano zalecane stężenia ładowania oraz instrukcje rozcieńczania dotyczące bibliotek Nextera DNA Flex for Enrichment, TruSeq DNA Nano oraz TruSeq DNA PCR-Free. Dodano informacje dotyczące stosowania metody normalizacji, która nie generuje jednoniciowych bibliotek. Dodano opisy dotyczące dwóch trybów przebiegu: trybu Local Run Manager oraz trybu ręcznego. Dodano opcję domieszki 5% kontroli PhiX oraz zdefiniowano przeznaczenie każdej wartości procentowej domieszki. Dodano następujące etapy:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Przełączanie na konto sbsadmin w systemie operacyjnym podczas instalowania oprogramowania sterującego, modułów analizy oraz innego oprogramowania.</li> <li>• Ponowne włączanie aparatu podczas przywracania ustawień fabrycznych.</li> </ul> <p>Odwołania do dokumentu <i>Illumina Adapter Sequences (Sekwencje adaptera firmy Illumina)</i> (nr dokumentu: 1000000002694) w celu określenia orientacji adaptera Index 2 (i5) dla arkusza próbek.</p> <p>Wyjaśniono następujące punkty:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kasety należy wykorzystać niezwłocznie po rozmrożeniu.</li> <li>• Stężenia ładowania wymienione dla bibliotek Nextera DNA Flex oraz Nextera Flex for Enrichment nie mają zastosowania do innych typów bibliotek Nextera.</li> <li>• SureCell WTA 3' nie jest kompatybilną biblioteką.</li> </ul>
Nr dokumentu: 1000000036024, wer. 03	Sierpień 2018 r.	<p>Zaktualizowano opisy oprogramowania dotyczące oprogramowania sterującego iSeq w wer. 1.3:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dodano instrukcje dotyczące konfiguracji aplikacji Universal Copy Service.</li> <li>• Zmieniono nazwę karty Network Configuration (Konfiguracja sieci) na Network Access (Dostęp do sieci).</li> <li>• Dodano instrukcje dotyczące otwierania oprogramowania Local Run Manager z poziomu oprogramowania sterującego.</li> </ul> <p>Zaktualizowano domyślną lokalizację folderu wyjściowego na <b>D:\SequencingRuns</b>.</p> <p>Dodano instrukcje dotyczące nawiązywania połączenia systemu z serwerem proxy.</p> <p>Dodano wymóg dotyczący określania ścieżki UNC dla lokalizacji folderu wyjściowego i arkusza próbek w sieci.</p> <p>Wskazano specjalne wymagania dotyczące konfigurowania lokalizacji folderu wyjściowego na dysku wewnętrznym lub zewnętrznym, a także w lokalizacji sieciowej.</p> <p>Podano instrukcje dotyczące tworzenia arkusza próbek w trybie ręcznym jako pierwszy etap konfiguracji przebiegu.</p> <p>Wprowadzono poprawki do instrukcji dotyczących używania kreatora instalacji pakietu oprogramowania systemowego.</p> <p>Wprowadzono poprawki do opisu wyjściowych plików miniatur.</p>

Dokument	Data	Opis zmiany
Nr dokumentu: 1000000036024, wer. 02	Czerwiec 2018 r.	<p>Zaktualizowano informacje dotyczące probówek do rozcieńczania bibliotek: Fisher Scientific, nr kat. 14-222-158, lub równoważne probówki o zmniejszonym przyleganiu próbki do powierzchni.</p> <p>Dodano część z opisem dostępności regionalnej opcji zaawansowanej wymiany.</p> <p>Doprecyzowano, że biblioteki rozcieńczone do stężenia ładowania muszą zostać poddane sekwencjonowaniu tego samego dnia.</p> <p>Doprecyzowano, że kasetę odczynników musi zostać wyjęta z opakowania w celu rozmrożenia.</p>
Nr dokumentu: 1000000036024, wer. 01	Maj 2018 r.	<p>Zaktualizowano opisy oprogramowania dotyczące oprogramowania sterującego iSeq w wer. 1.2:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dodano opis opcji wyszukiwania pobranego instalatora oprogramowania z poziomu oprogramowania sterującego.</li> <li>• Dodano instrukcje dotyczące zapisu miniatur.</li> <li>• Przeniesiono ustawienia sieciowe do karty Network Configuration (Konfiguracja sieci).</li> <li>• Zwiększono maksymalną liczbę użyć elementów testowych wielokrotnego użytku do 36 oraz dodano uwagę, że pozostała liczba użyć jest wyświetlana na ekranie.</li> </ul> <p>Zaktualizowano informacje dotyczące oprogramowania Local Run Manager:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dodano opisy etapów otwierania oprogramowania Local Run Manager i konfigurowania przebiegu.</li> <li>• Dodano informację o wstępnie zainstalowanym module analizy RNA Amplicon oraz o pozostałych obsługiwanych modułach – DNA Enrichment i Resequencing.</li> <li>• Zaktualizowano odniesienia do dokumentu <i>Local Run Manager Software Guide (Przewodnik użytkownika oprogramowania Local Run Manager)</i> (nr dokumentu: 100000002702).</li> </ul> <p>Zaktualizowano instrukcje dotyczące rozmrażania kasety:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dodano opis opcji rozmrażania w temperaturze pokojowej.</li> <li>• Dodano więcej szczegółowych instrukcji dotyczących kąpeli wodnej, w tym informacje na temat przechowywania przed rozmrożeniem.</li> </ul>

Dokument	Data	Opis zmiany
		<p>Zaktualizowano instrukcje dotyczące przygotowywania bibliotek do sekwencjonowania:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Zaktualizowano stężenie ładowania biblioteki Nextera DNA Flex do wartości 200 pM.</li> <li>• Dodano informację o początkowym stężeniu ładowania w przypadku niewymienionych rodzajów bibliotek.</li> <li>• Dodano informacje dotyczące wskaźnika metrycznego %Occupied (% udziału).</li> <li>• Zwiększono objętość domieszki kontroli PhiX o stężeniu 1 nM do 50 µl.</li> </ul> <p>Zmieniono numery katalogowe następujących produktów firmy Illumina:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Zapasowa podkładka do tacki ociekowej systemu iSeq 100 — 20023927.</li> <li>• Zapasowy filtr powietrza systemu iSeq 100 — 20023928.</li> </ul> <p>Zaktualizowano zalecenia dotyczące pipet i końcówek do pipet. Dodano instrukcje dotyczące różnych procesów:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Przeprowadzanie przebiegów walidacyjnych.</li> <li>• Tworzenie arkusza próbek podczas sekwencjonowania w trybie ręcznym.</li> <li>• Minimalizowanie oprogramowania sterującego w celu uzyskania dostępu do innych aplikacji.</li> </ul> <p>Dodano opisy następujących etapów procedury kontroli systemu:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wyładowywanie i przechowywanie elementów testowych wielokrotnego użytku.</li> <li>• Usuwanie widocznych zanieczyszczeń z testowej komory przepływowej wielokrotnego użytku.</li> </ul> <p>Uporządkowano poniższe treści w celu poprawy ciągłości tematycznej:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Włączono instrukcje dotyczące przeprowadzania przebiegu tylko z kontrolą PhiX do instrukcji dotyczących standardowego sekwencjonowania.</li> <li>• Włączono instrukcje dotyczące przygotowywania komory przepływowej do instrukcji dotyczących rozcieńczenia biblioteki.</li> <li>• Scalono instrukcje dotyczące domieszki kontroli PhiX.</li> <li>• Przeniesiono informacje dotyczące liczby cykli w odczycie.</li> <li>• Przeniesiono informacje dotyczące analizy w czasie rzeczywistym i zmieniono tytuł na <i>Dane wyjściowe sekwencjonowania</i>.</li> </ul> <p>Uproszczono schemat dotyczący usuwania komunikatów o błędach.</p> <p>Usunięto informacje dotyczące trybów tabletu i pulpitu. System operacyjny działa domyślnie w trybie pulpitu, w związku z czym tryb tabletu nie jest potrzebny.</p> <p>Usunięto wymóg dotyczący uzupełniania i odsyłania certyfikatu dekontaminacji w ramach zaawansowanej wymiany.</p> <p>Poprawiono średni rozmiar przebiegu na 2 GB.</p>
Nr dokumentu: 1000000036024, wersja 00	Luty 2018 r.	Pierwsze wydanie.

# Spis treści

<b>Rozdział 1 Przegląd</b> .....	<b>1</b>
Wstęp .....	1
Materiały dodatkowe .....	2
Elementy aparatu .....	3
Odczytnik iSeq 100i1 .....	7
<b>Rozdział 2 Rozpoczęcie</b> .....	<b>12</b>
Pierwsza konfiguracja .....	12
Minimalizowanie oprogramowania sterującego .....	12
Ustawienia przebiegu .....	13
Dostosowywanie aparatu .....	16
Konfigurowanie sieci .....	17
Materiały eksploatacyjne i wyposażenie dostarczane przez użytkownika .....	19
<b>Rozdział 3 Sekwencjonowanie</b> .....	<b>21</b>
Wstęp .....	21
Rozmrażanie kasety zapakowanej w torebkę .....	22
Przygotowywanie komory przepływowej i bibliotek .....	23
Ładowanie materiałów eksploatacyjnych do kasety .....	26
Konfiguracja przebiegu sekwencjonowania (Local Run Manager) .....	28
Konfiguracja przebiegu sekwencjonowania (tryb ręczny) .....	31
<b>Rozdział 4 Konserwacja</b> .....	<b>35</b>
Zwalnianie miejsca na dysku twardym .....	35
Aktualizacje oprogramowania .....	35
Wymiana filtra powietrza .....	37
Zmiana lokalizacji aparatu .....	39
<b>Dodatek A Dane wyjściowe sekwencjonowania</b> .....	<b>41</b>
Analiza w czasie rzeczywistym — omówienie .....	41
Procedura analizy w czasie rzeczywistym .....	44
<b>Dodatek B Rozwiązywanie problemów</b> .....	<b>47</b>
Usuwanie komunikatów o błędach .....	47
Anulowanie rozpoczętego przebiegu .....	48
Wyłączenie i ponowne włączenie aparatu .....	48
Przeprowadzanie kontroli systemu .....	49
Ograniczanie wycieku .....	51
Przywracanie ustawień fabrycznych .....	54
<b>Dodatek C Zaawansowana wymiana</b> .....	<b>56</b>
Wstęp .....	56



Otrzymanie systemu zastępczego .....	56
Przygotowanie oryginalnego systemu do zwrotu .....	57
Zwrot oryginalnego systemu .....	60
<b>Indeks .....</b>	<b>64</b>
<b>Pomoc techniczna .....</b>	<b>70</b>

# Rozdział 1 Przegląd

Wstęp .....	1
Materiały dodatkowe .....	2
Elementy aparatu .....	3
Odczynnik iSeq 100i1 .....	7

## Wstęp

Sekwencjonator iSeq™ 100 firmy Illumina® zapewnia ukierunkowane podejście do sekwencjonowania nowej generacji (ang. next-generation sequencing, NGS). Ten opracowany pod kątem współpracy z aplikacjami system to technologia sekwencjonowania firmy Illumina zintegrowana w ekonomicznym urządzeniu stacjonarnym.

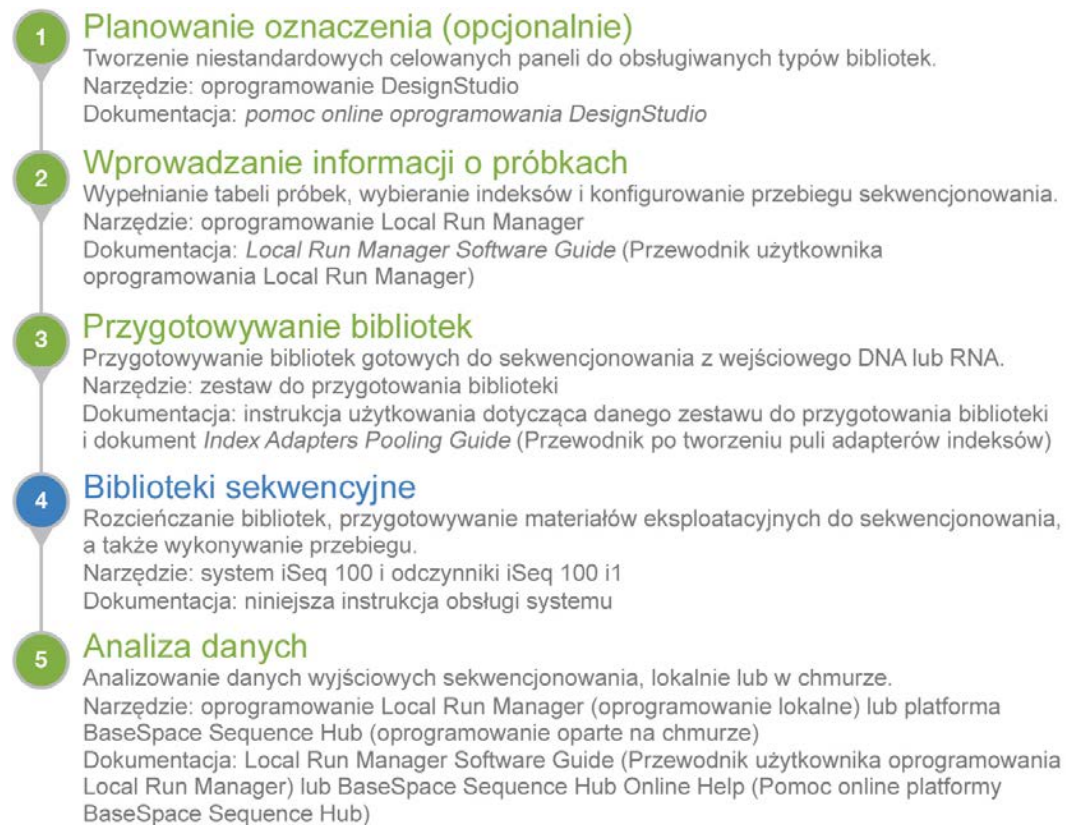
## Funkcje

- ▶ **Przystępność i niezawodność** — system iSeq 100 zajmuje niewiele miejsca oraz jest łatwy w instalacji i użytkowaniu. Elementy układu przepływowego i obrazowania stanowią część materiałów eksploatacyjnych, co upraszcza konserwację aparatu.
- ▶ **Jednoetapowe ładowanie materiałów eksploatacyjnych** — kaseta jednorazowego użytku jest wstępnie wypełniona wszystkimi odczynnikami wymaganymi do przebiegu. Bibliotekę i komorę przepływową wyposażoną w czujniki można załadować bezpośrednio do kasety, która jest następnie ładowana do aparatu. Zintegrowana identyfikacja pozwala na dokładne śledzenie.
- ▶ **Oprogramowanie systemu iSeq 100** — pakiet zintegrowanego oprogramowania służy do sterowania działaniem aparatu, przetwarzania obrazów i generowania rozpoznań nukleotydów. Pakiet ten umożliwia analizę danych na aparacie i zapewnia narzędzia przesyłania danych do analizy zewnętrznej.
  - ▶ **Analiza na aparacie** — oprogramowanie Local Run Manager wczytuje informacje o próbkach, a następnie analizuje dane przebiegu za pomocą modułu analizy wybranego dla przebiegu. Oprogramowanie zawiera pakiet modułów analizy.
  - ▶ **Analiza oparta na chmurze** — procedura sekwencjonowania jest zintegrowana z platformą BaseSpace Sequence Hub, środowiskiem przetwarzania w chmurze Illumina służącym do monitorowania przebiegów, analizy i zapisu danych oraz współpracy. Pliki wyników są przesyłane strumieniowo w czasie rzeczywistym na platformę BaseSpace Sequence Hub w celu analizy.

## Od próbki do analizy

Poniższy schemat przedstawia pełną procedurę sekwencjonowania — począwszy od projektowania eksperymentalnego aż do analizy danych. Przy każdym etapie wyszczególniono narzędzia i dokumentację. Niniejsza instrukcja obsługi zawiera informacje na temat etapu sekwencjonowania bibliotek. Pozostała dokumentacja jest dostępna na stronie [support.illumina.com](http://support.illumina.com).

Rysunek 1 Procedura postępowania od pracy z próbką do analizy



## Materiały dodatkowe

Materiały dodatkowe dotyczące sekwenatora znajdują się na [stronach pomocy technicznej sekwenatora iSeq 100](#) witryny internetowej firmy Illumina. Materiały te obejmują oprogramowanie, szkolenie, zgodne produkty i poniższą dokumentację. Zawsze należy sprawdzać, czy na stronach pomocy technicznej nie ma najnowszych wersji.

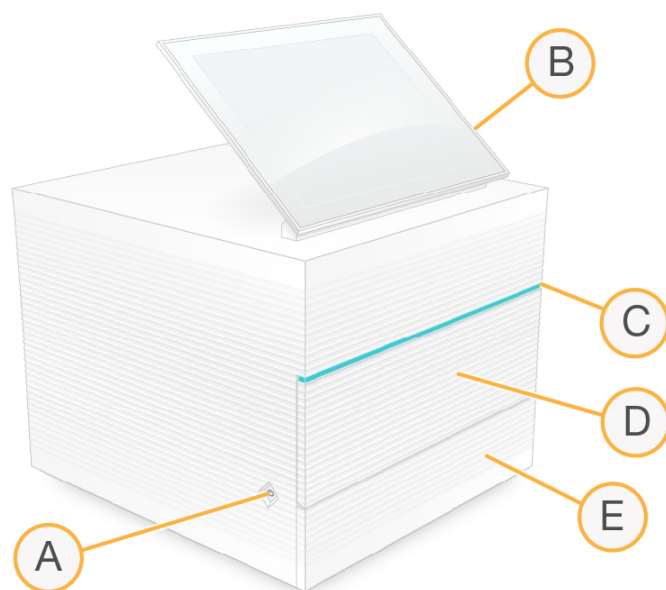
Źródło	Opis
<a href="#">Narzędzie do tworzenia protokołów niestandardowych</a>	Narzędzie do generowania kompleksowych instrukcji dostosowanych do metody przygotowywania biblioteki, parametrów przebiegu oraz metody analizy z możliwością zwiększenia poziomu szczegółowości.
<a href="#">Plakat instalacyjny sekwenatora iSeq 100 (nr dokumentu: 1000000035963)</a>	Zawiera instrukcje dotyczące instalacji aparatu i inicjowania pierwszej konfiguracji.
<a href="#">Przewodnik dotyczący przygotowania miejsca instalacji sekwenatora iSeq 100 (nr dokumentu: 1000000035337)</a>	Zawiera specyfikacje dotyczące miejsca w laboratorium, wymagań dotyczących instalacji elektrycznej oraz kwestii związanych ze środowiskiem i siecią.
<a href="#">Przewodnik dotyczący bezpieczeństwa i zgodności sekwenatora iSeq 100 z przepisami (nr dokumentu: 1000000035336)</a>	Zawiera informacje dotyczące kwestii bezpieczeństwa działania, oświadczeń dotyczących zgodności z przepisami i etykiet aparatu.

Źródło	Opis
Przewodnik dotyczący zgodności czytnika RFID z przepisami (nr dokumentu: 1000000002699)	Zawiera informacje dotyczące czytnika RFID w aparacie, w tym certyfikaty zgodności z przepisami i kwestie dotyczące bezpieczeństwa.

## Elementy aparatu

Sekwenator iSeq 100 jest wyposażony w przycisk zasilania, monitor, pasek stanu, przedział materiałów eksploatacyjnych i tackę ociekową.

Rysunek 2 Elementy zewnętrzne systemu



- A **Przycisk zasilania** — steruje zasilaniem aparatu i wskazuje, czy system jest włączony (świeci się), wyłączony (zgaszony) lub wyłączony, ale z zasilaniem prądem przemiennym (miga).
- B **Monitor z ekranem dotykowym** — umożliwia konfigurację aparatu za pomocą interfejsu oprogramowania sterującego.
- C **Pasek stanu** — informuje o stanie systemu: gotowy do sekwencjonowania (zielony), w trakcie przetwarzania (niebieski) lub wymagający uwagi (pomarańczowy).
- D **Przedział materiałów eksploatacyjnych** — zawiera materiały eksploatacyjne podczas przebiegu.
- E **Drzwiczki tacki ociekowej** — umożliwiają dostęp do tacki ociekowej, która wychwytuje wyciekłe płyny.

## Zasilanie i połączenia zewnętrzne

Użytkownik może przesunąć aparat, aby uzyskać dostęp do portów USB oraz innych elementów panelu tylnego.

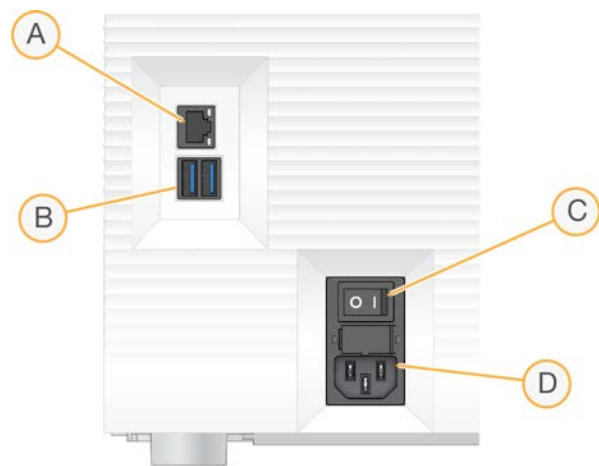
Z tyłu urządzenia znajdują się przełącznik i wejście służące do sterowania zasilaniem aparatu, a także gniazdo Ethernet do opcjonalnego połączenia z siecią Ethernet. Dwa porty USB zapewniają możliwość podłączenia myszy oraz klawiatury, a także wysyłania oraz pobierania danych za pomocą urządzenia przenośnego.



### UWAGA

Podłączenie do systemu klawiatury i myszy powoduje wyłączenie klawiatury ekranowej.

Rysunek 3 Elementy panelu tylnego

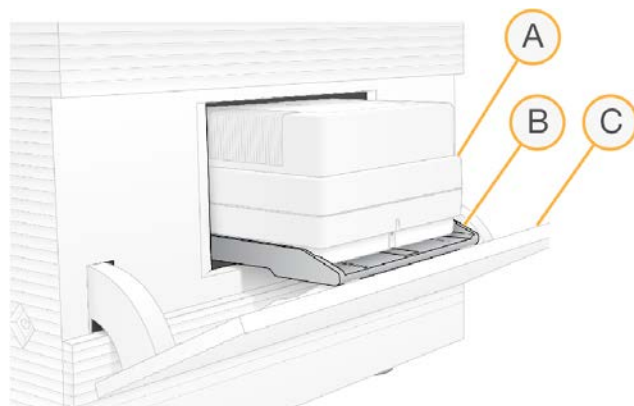


- A **Gniazdo Ethernet** — umożliwia opcjonalne podłączenie kabla Ethernet.
- B **Porty USB** — dwa porty do podłączania elementów dodatkowych.
- C **Przełącznik** — służy do włączania i wyłączania zasilania urządzenia.
- D **Wejście zasilania prądem przemiennym** — służy do podłączania przewodu zasilającego.

## Przedział materiałów eksploatacyjnych

Przedział materiałów eksploatacyjnych zawiera kasetę do przebiegu sekwencjonowania.

Rysunek 4 Załadowany przedział materiałów eksploatacyjnych



- A **Kaseta** — zawiera komorę przepływową, bibliotekę i odczynniki; służy do zbierania zużytych odczynników podczas przebiegu.
- B **Taca** — w niej znajduje się kaseta podczas sekwencjonowania.
- C **Drzwiczki** — otwierają się pod kątem maksymalnie 60 stopni, aby umożliwić dostęp do przedziału materiałów eksploatacyjnych.

Oprogramowanie powoduje otwieranie i zamykanie się drzwiczek przedziału i ustawienie kasety do obrazowania. Drzwiczki otwiera się na zawiasach w dół, w kierunku podstawy aparatu. Nie należy umieszczać przedmiotów na otwartych drzwiczkach, ponieważ nie są one przeznaczone do używania ich jako półki.

## Testowa kasetka i komora przepływowa wielokrotnego użytku

Aparat jest dostarczany z testową komorą przepływową iSeq 100 wielokrotnego użytku oraz testową kasetką iSeq 100 wielokrotnego użytku do stosowania podczas kontroli systemu. Przechowywać te elementy w oryginalnych opakowaniach w temperaturze pokojowej i używać maksymalnie 130 razy. Podczas kontroli systemu w oprogramowaniu jest wyświetlana pozostała liczba użyć.

Rysunek 5 Elementy testowe wielokrotnego użytku



- A Testowa komora przepływowa wielokrotnego użytku
- B Testowa kasetka wielokrotnego użytku

Elementy testowe wielokrotnego użytku przypominają wyglądem elementy do sekwencjonowania dostępne w zestawie odczynnika iSeq 100 i1 w wer. 2, a kierunek ich ładowania do aparatu jest taki sam. Niemniej jednak kasetka testowa nie jest wyposażona w zbiornik na bibliotekę, a żaden z elementów testowych nie zawiera odczynników chemicznych wymaganych w przypadku przebiegu.

Elementy testowe wielokrotnego użytku tracą ważność po 5 latach od daty produkcji. Po upływie daty ważności lub po maksymalnej liczbie użyć wymienić elementy testowe wielokrotnego użytku za pomocą zestawu testowego systemu iSeq 100.

## Oprogramowanie systemu

Pakiet oprogramowania systemu obejmuje zintegrowane aplikacje odpowiedzialne za przeprowadzanie przebiegów sekwencjonowania oraz wewnętrznej analizy danych w aparacie.

- ▶ **Oprogramowanie sterujące iSeq** — steruje operacjami przeprowadzanymi w aparacie oraz zapewnia interfejs umożliwiający konfigurację systemu, skonfigurowanie przebiegu sekwencjonowania oraz monitorowanie statystyk dotyczących przebiegu w miarę postępu procesu sekwencjonowania.
- ▶ **Local Run Manager** — służy do określania parametrów przebiegu oraz metody analizy przed rozpoczęciem sekwencjonowania. Po zakończeniu sekwencjonowania automatycznie rozpoczyna się wewnętrzna analiza danych w aparacie.
  - ▶ System jest dostarczany z zainstalowanymi modułami analizy DNA Amplicon, RNA Amplicon i Generate FASTQ.
  - ▶ System obsługuje również moduły analizy DNA Enrichment oraz Resequencing dostępne na stronach pomocy technicznej oprogramowania [Local Run Manager](#).
  - ▶ Więcej informacji na temat oprogramowania Local Run Manager i modułów analizy zawiera dokument *Local Run Manager Software Guide (Instrukcja obsługi oprogramowania Local Run Manager)* (nr dokumentu: 100000002702).

- ▶ **Real-Time Analysis (RTA2)** — służy do przeprowadzania analizy obrazu i rozpoznawania nukleotydów podczas przebiegu. Więcej informacji na ten temat znajduje się w części *Dane wyjściowe sekwencjonowania na stronie 41*.
- ▶ **Universal Copy Service** — służy do kopiowania plików wyjściowych sekwencjonowania z folderu przebiegu na platformę BaseSpace Sequence Hub (jeśli dotyczy) oraz do folderu wyjściowego, w którym są one dostępne dla użytkownika.

Praca aplikacji Real-Time Analysis i Universal Copy Service przebiega wyłącznie w tle. Aplikacja Local Run Manager oraz oprogramowanie sterujące mogą wymagać wprowadzenia danych przez użytkownika.

## Informacje dotyczące systemu

W menu oprogramowania sterującego dostępna jest sekcja About (Informacje) zawierająca dane kontaktowe firmy Illumina oraz podane poniżej informacje dotyczące systemu.

- ▶ Numer seryjny
- ▶ Nazwa komputera i adres IP
- ▶ Wersja fragmentu protokołu
- ▶ Licznik przebiegów

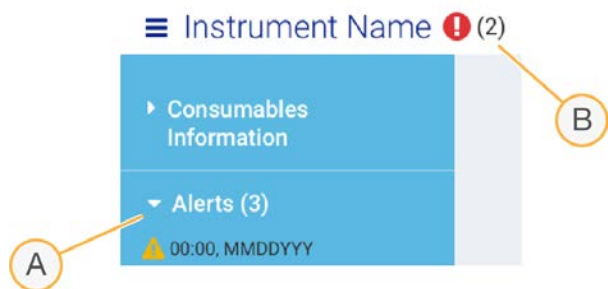
## Powiadomienia

Obok nazwy aparatu pojawia się ikona informująca o powiadomieniach. Po wybraniu ikony zostanie wyświetlona lista powiadomień obejmujących ostrzeżenia i błędy.

- ▶ Ostrzeżenia wymagają uwagi, ale nie powodują zatrzymania przebiegu ani czynności innej niż zatwierdzenie.
- ▶ Błędy wymagają wykonania czynności przed rozpoczęciem lub kontynuowaniem przebiegu.

W panelu po lewej stronie ekranów konfiguracji przebiegu wyświetlane są powiadomienia dotyczące ładowania kasety i wstępnych testów kontrolnych.

**Rysunek 6** Umieszczenie na ekranie



- A Powiadomienia dotyczące konfiguracji przebiegu
- B Inne powiadomienia

## Zarządzanie procesem

Na ekranie Process Management (Zarządzanie procesem) wyświetlane są informacje dotyczące miejsca na dysku twardym (dysk D) oraz statusu przebiegów z uwzględnieniem nazwy, identyfikatora i daty każdego przebiegu. Ekran jest automatycznie odświeżany co trzy minuty.

Na podstawie przetworzonych danych plików BCL kolumna Status wskazuje, czy przebieg jest w toku, czy został ukończony. Ponadto na ekranie Process Management (Zarządzanie procesem) dla każdego przebiegu wyświetlany jest status procesów w tle aplikacji Universal Copy Service, platformy BaseSpace Sequence Hub i oprogramowania Local Run Manager.

Procesy, które nie mają zastosowania, nie są widoczne na ekranie. Jeśli na przykład przebieg nie jest połączony z platformą BaseSpace Sequence Hub, na ekranie Process Management (Zarządzanie procesem) nie zostanie wyświetlony dla niego status BaseSpace.

- ▶ Informacje na temat rozwiązywania problemów ze statusami zawiera część *Status zarządzania procesem na stronie 47*.
- ▶ Instrukcje dotyczące usuwania przebiegów w celu zwolnienia miejsca na dysku zawiera część *Zwalnianie miejsca na dysku twardym na stronie 35*.

## Status aplikacji Universal Copy Service

Aplikacja Universal Copy Service przedstawia status kopiowania plików do folderu wyjściowego:

- ▶ **In Progress** (W toku) — aplikacja Universal Copy Service kopiuje pliki do folderu wyjściowego.
- ▶ **Complete** (Ukończono) — aplikacja Universal Copy Services pomyślnie skopiowała wszystkie pliki do folderu wyjściowego.

## Status platformy BaseSpace Sequence Hub

Platforma BaseSpace Sequence Hub przedstawia status wczytywania plików:

- ▶ **In Progress** (W toku) — oprogramowanie sterujące wczytuje pliki na platformie BaseSpace Sequence Hub.
- ▶ **Complete** (Ukończono) — wszystkie pliki zostały pomyślnie wczytane przez oprogramowanie sterujące na platformie BaseSpace Sequence Hub.

## Status oprogramowania Local Run Manager

Aplikacja Local Run Manager przedstawia status analizy w oprogramowaniu sterującym:

- ▶ **Not Started** (Nie rozpoczęto) — analiza oczekuje na rozpoczęcie lub oprogramowanie Local Run Manager oczekuje na zakończenie analizy w czasie rzeczywistym.
- ▶ **In Progress** (W toku) — oprogramowanie Local Run Manager analizuje pliki. Bardziej szczegółowy status można sprawdzić w oprogramowaniu Local Run Manager.
- ▶ **Stopped** (Zatrzymano) — analiza została zatrzymana przed ukończeniem.
- ▶ **Complete** (Ukończono) — oprogramowanie Local Run Manager pomyślnie ukończyło analizę.

Więcej informacji na temat statusu analizy można znaleźć w oprogramowaniu Local Run Manager.

## Odczynnik iSeq 100 i1

Do przeprowadzenia przebiegu w systemie iSeq 100 wymagany jest zestaw odczynników iSeq 100 i1 w wer. 2 przeznaczony do jednorazowego użytku. Zestaw jest dostępny w jednym rozmiarze (300 cykli) oraz w trzech rodzajach pakietów:

- ▶ **Pojedynczy** — zawiera materiały eksploatacyjne do jednego przebiegu.
- ▶ **Czteropak** — zawiera materiały eksploatacyjne do czterech przebiegów.
- ▶ **Ośmiopak** — zawiera materiały eksploatacyjne do ośmiu przebiegów.



## Zawartość i przechowywanie

Zestaw odczynników iSeq 100 i1 w ver. 2 obejmuje kasetę i komorę przepływową do sekwencjonowania.

Pakiet	Ilość	Element	Temperatura przechowywania
Pojedynczy	1	Kaseta	od -25°C do -15°C
	1	Komora przepływowa	od 2°C do 8°C*
Czteropak	4	Kaseta	od -25°C do -15°C
	4	Komora przepływowa	od 2°C do 8°C*
Ośmiopak	8	Kaseta	od -25°C do -15°C
	8	Komora przepływowa	od 2°C do 8°C*

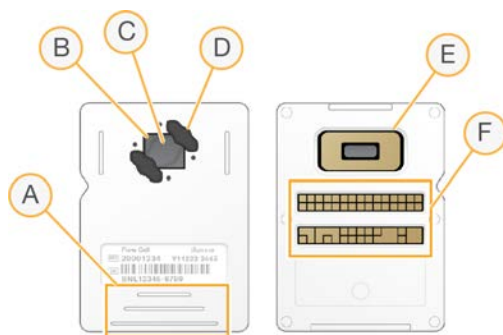
\* Dostarczana w temperaturze pokojowej.

Po otrzymaniu odczynnika iSeq 100 i1 w ver. 2 należy niezwłocznie umieścić składniki we wskazanych warunkach w celu zapewnienia poprawnego działania.

- ▶ Przechowywać we wskazanych temperaturach.
- ▶ Nie otwierać białego foliowego opakowania do momentu otrzymania odpowiedniego polecenia. Kasetę należy rozmrozić w odpowiedniej torebce.
- ▶ **Kasetę ustawić tak, aby etykieta na opakowaniu była skierowana ku górze.**
- ▶ Kasetę przed rozmrożeniem przechowywać przez co najmniej jeden dzień w kąpielii wodnej.

## Komora przepływowa

Komora przepływowa iSeq 100 i1 to uporządkowana, jednopasmowa komora przepływowa na czujniku optycznym typu CMOS (komplementarny półprzewodnik na podłożu z tlenku metalu). Szklana komora przepływowa znajduje się wewnątrz plastikowej kasety. Uniesione punkty uchwytu na plastiku ułatwiają obsługę.



- A Punkty uchwytu
- B Czujnik CMOS (górze)
- C Obszar obrazowania
- D Uszczelka (jedna z dwóch)
- E Czujnik CMOS (spód)
- F Interfejs elektryczny

Powierzchnię komory przepływowej pokrywają miliony nanodołków. W nanodołkach tworzą się klastry, z poziomu których jest następnie przeprowadzana reakcja sekwencjonowania. Uporządkowany układ nanodołków pozwala zwiększyć liczbę odczytów wyników i ilość danych. Podczas sekwencjonowania czujnik CMOS przechwytywa obrazy do analizy.

Aby umożliwić śledzenie i zapewnić zgodność, komora przepływowa wykorzystuje interfejs elektryczny: elektrycznie wymazywalną, programowalną pamięć tylko do odczytu (EEPROM).

## Kaseta

Kaseta iSeq 100 i1 jest wstępnie wypełniona odczynnikami do pracy z klastrami, sekwencjonowania, sekwencjonowania w trybie sparowanych końców i indeksowania odczynników. Zbiorniczek w folii zabezpieczającej jest zarezerwowany dla bibliotek, a gniazdo z przedniej strony jest zarezerwowane dla komory przepływowej. Światło iluminatora dociera do komory przepływowej przez okno dostępu na górze kasety.



- A Okno dostępu
- B Gniazdo komory przepływowej
- C Zbiorniczek na bibliotekę

Kaseta zawiera wszystkie materiały eksploatacyjne do przebiegu: odczynniki, bibliotekę i komorę przepływową. Bibliotekę i komorę przepływową ładuje się do rozmrożonej kasety, która jest następnie ładowana do aparatu. Identyfikacja radiowa (RFID) zapewnia zgodność i umożliwia śledzenie.

Po rozpoczęciu przebiegu odczynniki i biblioteka są automatycznie przenoszone z kasety do komory przepływowej. W umieszczonym u dołu zbiorniczku gromadzą się zużyte odczynniki. Kaseta zawiera również pompy, zawory i inne elementy układu przepływowego systemu. Po przebiegu kaseta jest utylizowana, dlatego płukanie aparatu nie jest wymagane.

## Zgodność oprogramowania

Przed rozmrożeniem odczynników i skonfigurowaniem przebiegu należy upewnić się, że system został zaktualizowany do wersji oprogramowania zgodnej z użytym zestawem. Informacje na temat aktualizacji znajdują się w części [Aktualizacje oprogramowania na stronie 35](#).

Zestaw	Zgodne oprogramowanie
Odczynnik iSeq 100 i1, wer. 2	Oprogramowanie sterujące iSeq, wer. 2.0 lub nowsza
Odczynnik iSeq 100 i1, wer. 1	Oprogramowanie sterujące iSeq, wer. 1.2 lub nowsza

## Obsługiwana liczba cykli

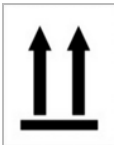







Etykieta z informacją o 300 cyklach widoczna na kasecie wskazuje liczbę cykli, podczas których wykonywana jest analiza, a nie liczbę przeprowadzanych cykli. Kaseeta zawiera odczynniki w objętości wystarczającej do przeprowadzenia maksymalnie 322 cykli sekwencjonowania.



322 cykle obejmują 151 cykli na każdy z odczytów (1 i 2) oraz dodatkowo maksymalnie 10 cykli na każdą z faz indeksowania (indeks 1 i indeks 2). Informacje na temat liczby cykli w procesie sekwencjonowania zawiera część *Zalecana liczba cykli na stronie 22*.

Komorę przepływową można stosować do dowolnej liczby cykli i dowolnego typu odczytu.

## Opisy symboli

Poniższa tabela zawiera opisy symboli stosowanych na materiałach eksploatacyjnych lub ich opakowaniach.

Symbol	Opis
	Wskazuje, którą stroną skierować do góry podczas przechowywania.
	Termin ważności materiału eksploatacyjnego. W celu uzyskania najlepszych wyników materiał eksploatacyjny powinien zostać użyty przed tym terminem.
	Wskazuje producenta (Illumina).
	Data produkcji materiału eksploatacyjnego.
	Przeznaczenie materiału wyłącznie do celów badawczych.
	Wskazuje numer katalogowy umożliwiający identyfikację materiału eksploatacyjnego.*
	Wskazuje kod partii umożliwiający identyfikację partii lub serii produkcyjnej materiału eksploatacyjnego.*
	Wskazuje na konieczność zachowania ostrożności.

Symbol	Opis
	Wskazuje na zagrożenie dla zdrowia.
	Zakres temperatur przechowywania w stopniach Celsjusza. Materiał eksploatacyjny należy przechowywać w temperaturze mieszczącej się we wskazanym zakresie.

\* Numer REF odnosi się do konkretnego elementu, natomiast numer LOT określa partię lub serię, z której pochodzi ten element.

# Rozdział 2 Rozpoczęcie

Pierwsza konfiguracja .....	12
Minimalizowanie oprogramowania sterującego .....	12
Ustawienia przebiegu .....	13
Dostosowywanie aparatu .....	16
Konfigurowanie sieci .....	17
Materiały eksploatacyjne i wyposażenie dostarczane przez użytkownika .....	19

## Pierwsza konfiguracja

Po pierwszym włączeniu systemu uruchamiane jest oprogramowanie sterujące, po czym wyświetlane są kolejne ekrany przeprowadzające użytkownika przez pierwszą konfigurację. Pierwsza konfiguracja obejmuje przeprowadzenie kontroli systemu w celu potwierdzenia prawidłowego działania aparatu i skonfigurowanie ustawień systemu.

Jeśli po pierwszej konfiguracji wymagane jest zmodyfikowanie ustawień systemu, należy wybrać polecenie System Settings (Ustawienia systemu) w oprogramowaniu sterującym. To polecenie spowoduje otwarcie kart Settings (Ustawienia), Network Access (Dostęp do sieci) oraz Customization (Dostosowanie), na których można uzyskiwać dostęp do wszystkich ustawień oprogramowania sterującego i ustawień sieciowych systemu Windows.

## Konta w systemie operacyjnym

W systemie operacyjnym Windows są dostępne dwa konta: administrator (sbsadmin) i użytkownik standardowy (sbsuser). System operacyjny wymaga zmiany haseł dla obu kont po pierwszym zalogowaniu.

Konto administratora jest przeznaczone do użytku IT, aktualizowania systemu oraz instalowania oprogramowania sterującego, modułów analizy oprogramowania Local Run Manager oraz innego oprogramowania. Wszystkie inne czynności, w tym sekwencjonowanie, należy wykonywać, korzystając z konta użytkownika.

## Przebiegi walidacyjne

Przed pierwszym sekwencjonowaniem eksperymentalnych bibliotek można opcjonalnie wykonać przebieg walidacyjny. Przebieg walidacyjny sekwencjonuje kontrolę PhiX 100%, która działa jako biblioteka kontrolna, w celu potwierdzenia działania systemu. Instrukcje zawiera część *Sekwencjonowanie na stronie 21*.

## Minimalizowanie oprogramowania sterującego

Zminimalizowanie oprogramowania sterującego umożliwia uzyskanie dostępu do innych aplikacji, przykładowo w celu przejścia do folderu wyjściowego w eksploratorze plików lub wyszukania arkusza próbek.

- 1 Przesunąć palcem w górę po ekranie dotykowym, aby otworzyć pasek zadań systemu Windows.
- 2 Wybrać ikonę **iSeq 100 System** (System iSeq 100) lub innej aplikacji. Oprogramowanie sterujące zostanie zminimalizowane.
- 3 **(Opcjonalnie)** Podłączyć do aparatu klawiaturę i mysz w celu ułatwienia nawigacji i wprowadzania danych poza oprogramowaniem sterującym.
- 4 Aby zmaksymalizować oprogramowanie sterujące, przesunąć palcem w górę i wybrać **iSeq 100 System** (System iSeq 100).

## Ustawienia przebiegu

Opcje konfiguracji przebiegu, monitorowania przebiegu oraz analizy danych należy skonfigurować na karcie Settings (Ustawienia) w obszarze System Settings (Ustawienia systemu). Na tej karcie wyświetlane są zalecane ustawienia ekspresowe, które można zastosować, wybierając opcję konfiguracji ekspresowej. Zamiast tego można wybrać opcję konfiguracji ręcznej, aby dostosować ustawienia.

Wybranie ustawień ekspresowych powoduje zastosowanie poniższych ustawień i wysłanie plików InterOp, plików dziennika, danych dotyczących działania aparatu oraz danych przebiegu do platformy BaseSpace Sequence Hub:

- ▶ **Illumina Proactive Support** — ta usługa ułatwia rozwiązywanie problemów oraz wykrywanie potencjalnych usterek, co pozwala na proaktywną konserwację i maksymalizację czasu pracy aparatu. Włączenie usługi Illumina Proactive Support powoduje wysyłanie danych dotyczących działania aparatu (bez danych sekwencjonowania) do platformy BaseSpace Sequence Hub. Więcej informacji zawiera dokument *Illumina Proactive Technical Note (Uwaga techniczna dotycząca usługi Illumina Proactive)* (dokument nr 1000000052503).
- ▶ **Local Run Manager** — oprogramowanie Local Run Manager służy do tworzenia przebiegów i analizowania danych przebiegów w ramach uproszczonej procedury postępowania. Dzięki temu nie są potrzebne osobne arkusze próbek ani aplikacje analizujące.
- ▶ **Remote Run Monitoring** (Zdalne monitorowanie przebiegu) — platforma BaseSpace Sequence Hub jest używana w celu zdalnego monitorowania przebiegów.
- ▶ **Run Analysis, Collaboration, and Storage** (Analiza przebiegu, współpraca i zapis) — platforma BaseSpace Sequence Hub jest używana na potrzeby zapisywania i analizowania danych przebiegów oraz w celu współpracy ze współpracownikami.



### UWAGA

Oprogramowanie Local Run Manager automatycznie rozpoczyna analizę po zakończeniu przebiegu. Można również jednak analizować dane w platformie BaseSpace Sequence Hub.

## Stosowanie ustawień ekspresowych

Konfiguracja ekspresowa umożliwia zastąpienie bieżących ustawień przebiegu zalecanymi ustawieniami przebiegu oraz zlokalizowanymi ustawieniami platformy BaseSpace Sequence Hub. Ustawienia te wymagają połączenia internetowego oraz konta na platformie BaseSpace Sequence Hub. Instrukcje dotyczące konfigurowania konta zawiera dokument *BaseSpace Sequence Hub Online Help (Pomoc online platformy BaseSpace Sequence Hub)* (dokument nr 1000000009008).

- 1 W menu oprogramowania sterującego wybrać **System Settings** (Ustawienia systemu).
- 2 Na karcie Settings (Ustawienia) wybrać **Use Express Settings** (Użyj ustawień ekspresowych).
- 3 Na liście Set Region (Ustaw region) wybrać lokalizację geograficzną, w której znajduje się system, lub najbliższą miejsca, w którym znajduje się system.  
Wybranie tego ustawienia zapewnia, że dane będą zapisywane w lokalizacji odpowiedniej dla platformy BaseSpace Sequence Hub.
- 4 W przypadku posiadania subskrypcji Enterprise do pola Enter Private Domain (Wprowadź domenę prywatną) wprowadzić nazwę domeny (URL) służącą do rejestracji jednokrotnej na platformie BaseSpace Sequence Hub.  
Na przykład: <https://nazwalaboratorium.basespace.illumina.com>.
- 5 Wybrać **Next** (Dalej).

- 6 Sprawdzić ustawienia. Aby zmodyfikować ustawienie:
  - a Wybrać **Edit** (Edytuj), aby otworzyć ustawienie.
  - b Zmodyfikować ustawienie odpowiednio do potrzeb, a następnie wybrać **Next** (Dalej).
  - c Wybierać **Next** (Dalej), aby przechodzić przez kolejne ekrany.

Na ekranie Settings Review (Kontrola ustawień) zielony znacznik wyboru wskazuje włączone ustawienia.

- 7 Wybrać **Save** (Zapisz).
- 8 Aby zamknąć obszar System Settings (Ustawienia systemu), wybrać **Exit** (Wyjdź).

## Ręczne konfigurowanie ustawień

Podczas konfiguracji ręcznej użytkownik otrzymuje wskazówki na każdym ekranie karty Settings (Ustawienia) w celu konfigurowania ustawień przebiegu, dla których obowiązują następujące wymagania:

- ▶ W celu włączenia usługi Illumina Proactive Support i platformy BaseSpace Sequence Hub wymagane jest połączenie internetowe. Platforma BaseSpace Sequence Hub wymaga również konta. Instrukcje dotyczące konfigurowania konta zawiera dokument *BaseSpace Sequence Hub Online Help (Pomoc online platformy BaseSpace Sequence Hub)* (dokument nr 100000009008).
- ▶ W celu korzystania z platformy BaseSpace Sequence Hub na potrzeby analizy danych, gdy w systemie skonfigurowany jest tryb Manual (Ręczny), wymagany jest arkusz próbek. Szczegółowe informacje zawiera sekcja *Wymagania dotyczące arkusza próbek na stronie 15*.

- 1 W menu oprogramowania sterującego wybrać **System Settings** (Ustawienia systemu).

- 2 Wybrać **Set Up Manually** (Konfiguracja ręczna).

- 3 Wybrać, czy usługa Illumina Proactive Support zostanie włączona:

- ▶ Aby ją włączyć, zaznaczyć pole wyboru **Turn on Illumina Proactive Support** (Włącz usługę Illumina Proactive Support).
- ▶ Aby ją wyłączyć, usunąć zaznaczenie pola wyboru **Turn on Illumina Proactive Support** (Włącz usługę Illumina Proactive Support).

Usługa ta umożliwia wysyłanie danych dotyczących działania aparatu, takich jak temperatura i czas przebiegu, do firmy Illumina. Dane te ułatwiają firmie Illumina wykrywanie potencjalnych awarii i rozwiązywanie problemów. Dane przebiegów nie są wysyłane. Więcej informacji zawiera dokument *Illumina Proactive Technical Note (Uwaga techniczna dotycząca usługi Illumina Proactive)* (dokument nr 1000000052503).

- 4 Wybrać **Next** (Dalej).

- 5 Wybrać, czy przebiegi będą podłączane do platformy BaseSpace Sequence Hub.

- ▶ W celu podłączenia przebiegów należy zaznaczyć jedno z następujących pól wyboru:
  - ▶ **Turn on run monitoring from anywhere only** (Włącz tylko monitorowanie przebiegu z dowolnego miejsca) — zaznaczenie tej opcji oznacza, że platforma BaseSpace Sequence Hub będzie używana do monitorowania zdalnego.
  - ▶ **Turn on run analysis, collaboration, and storage also** (Włącz również analizę przebiegu, współpracę i zapis) — po zaznaczeniu tej opcji platforma BaseSpace Sequence Hub będzie używana do monitorowania zdalnego oraz do analiz.
- ▶ W celu odłączenia przebiegów należy usunąć zaznaczenie pól wyboru **Turn on run monitoring from anywhere only** (Włącz tylko monitorowanie przebiegu z dowolnego miejsca) i **Turn on run analysis, collaboration, and storage also** (Włącz również analizę przebiegu, współpracę i zapis).

Po podłączeniu oprogramowanie sterujące wysyła pliki InterOp oraz pliki dziennika do platformy BaseSpace Sequence Hub. Wybranie opcji dotyczącej analizy przebiegu, współpracy i zapisu również powoduje wysyłanie danych przebiegu.

- 6 Na liście Set Region (Ustaw region) wybrać lokalizację geograficzną, w której znajduje się system, lub najbliższą miejscą, w którym znajduje się system.  
Wybranie tego ustawienia zapewnia, że dane będą zapisywane w lokalizacji odpowiedniej dla platformy BaseSpace Sequence Hub.
- 7 W przypadku posiadania subskrypcji Enterprise do pola Enter Private Domain (Wprowadź domenę prywatną) wprowadzić nazwę domeny (URL) służącą do rejestracji jednokrotnej na platformie BaseSpace Sequence Hub.  
Na przykład: <https://nazwalaboratorium.basespace.illumina.com>.
- 8 Wybrać **Next** (Dalej).
- 9 Wybrać, czy oprogramowanie sterujące zostanie zintegrowane z oprogramowaniem Local Run Manager.
  - ▶ Aby tworzyć przebiegi i analizować dane w oprogramowaniu Local Run Manager, wybrać **Use Local Run Manager** (Używaj oprogramowania Local Run Manager).
  - ▶ Aby tworzyć przebiegi w oprogramowaniu sterującym i analizować dane w innej aplikacji, wybrać **Use Manual Mode** (Używaj trybu ręcznego).

Oprogramowanie Local Run Manager zapewnia najbardziej uproszczoną procedurę postępowania, ale nie jest ono składnikiem oprogramowania sterującego. Jest to zintegrowane oprogramowanie przeznaczone do rejestrowania próbek do sekwencjonowania, tworzenia przebiegów i analizowania danych. Przed rozpoczęciem sekwencjonowania należy zapoznać się z dokumentem *Local Run Manager Software Guide (Przewodnik użytkownika oprogramowania Local Run Manager)* (nr dokumentu: 1000000002702).
- 10 Wybrać **Next** (Dalej).
- 11 Sprawdzić ustawienia. Aby zmodyfikować ustawienie:
  - a Wybrać **Edit** (Edytuj), aby otworzyć ustawienie.
  - b Zmodyfikować ustawienie odpowiednio do potrzeb, a następnie wybrać **Next** (Dalej).
  - c Wybierać **Next** (Dalej), aby przechodzić przez kolejne ekrany.

Na ekranie Settings Review (Kontrola ustawień) zielony znacznik wyboru wskazuje włączone ustawienia.
- 12 Wybrać **Save** (Zapisz).
- 13 Aby zamknąć obszar System Settings (Ustawienia systemu), wybrać **Exit** (Wyjdź).

## Wymagania dotyczące arkusza próbek

Jeśli system jest skonfigurowany odpowiednio do trybu Manual (Ręczny), a dane są analizowane w platformie BaseSpace Sequence Hub, każdy przebieg wymaga arkusza próbek. Arkusz próbek należy utworzyć przez edycję szablonu *iSeq 100 System Sample Sheet Template for Manual Mode* (Szablon arkusza próbek systemu iSeq 100 do pracy w trybie ręcznym), a następnie zaimportowanie go do oprogramowania sterującego na etapie konfiguracji przebiegu. Po imporcie oprogramowanie automatycznie zmienia nazwę arkusza próbek na **SampleSheet.csv**.

Pobrać szablon arkusza próbek ze stron pomocy technicznej sekwenatora iSeq 100: [iSeq 100 System Sample Sheet Template for Manual Mode](#) (Szablon arkusza próbek systemu iSeq 100 do pracy w trybie ręcznym).





## PRZESTROGA

Wprowadzić sekwencje adaptera Index 2 (i5) (Indeks 2 (i5)) w orientacji odpowiedniej dla sekwenatora iSeq 100. Informacje na temat orientacji indeksu zawiera dokument *Illumina Adapter Sequences (Sekwencje adaptera firmy Illumina)* (nr dokumentu: 1000000002694).

Arkusze próbek jest również wymagany, gdy dla systemu skonfigurowano tryb Local Run Manager. Niemniej jednak oprogramowanie Local Run Manager samo tworzy arkusz próbek i zapisuje go w odpowiedniej lokalizacji. We wszystkich pozostałych sytuacjach arkusz próbek jest opcjonalny.

## Dostosowywanie aparatu

Na karcie Customization (Dostosowanie) w obszarze System Settings (Ustawienia systemu) należy nazwać aparat i skonfigurować ustawienia dotyczące dźwięku, obrazów miniatur i aktualizacji oprogramowania.

### Nadawanie nazwy aparatowi

- 1 W menu oprogramowania sterującego wybrać **System Settings** (Ustawienia systemu).
- 2 Wybrać kartę Customization (Dostosowanie).
- 3 W polu Instrument Nickname (Nazwa aparatu) wprowadzić preferowaną nazwę aparatu. Nazwa będzie wyświetlana w górnej części każdego ekranu.
- 4 Wybrać **Save** (Zapisz).
- 5 Aby zamknąć obszar System Settings (Ustawienia systemu), wybrać **Exit** (Wyjdź).

### Włączanie i wyłączenie dźwięku

- 1 W menu oprogramowania sterującego wybrać **System Settings** (Ustawienia systemu).
- 2 Wybrać kartę Customization (Dostosowanie).
- 3 Określić, czy system ma być wyciszony.
  - ▶ Aby wyłączyć dźwięk, wybrać **Off** (Wyłącz).
  - ▶ Aby włączyć dźwięk, wybrać **On** (Włącz).
- 4 Wybrać **Save** (Zapisz).
- 5 Aby zamknąć obszar System Settings (Ustawienia systemu), wybrać **Exit** (Wyjdź).

### Zapisywanie miniatur

- 1 W menu oprogramowania sterującego wybrać **System Settings** (Ustawienia systemu).
- 2 Wybrać kartę Customization (Dostosowanie).
- 3 Wybrać, czy mają zostać zapisane obrazy miniatur:
  - ▶ Aby zapisać wszystkie miniatury, zaznaczyć pole wyboru **Save all thumbnail images** (Zapisz wszystkie obrazy miniatur).
  - ▶ Aby nie zapisywać miniatur, usunąć zaznaczenie pola wyboru **Save all thumbnail images** (Zapisz wszystkie obrazy miniatur).

Zapis miniatur jest pomocny przy rozwiązywaniu problemów, ale powoduje nieznaczne zwiększenie rozmiaru przebiegu. Domyślnie zapisywane są wszystkie obrazy miniatur.
- 4 Wybrać **Save** (Zapisz).
- 5 Aby zamknąć obszar System Settings (Ustawienia systemu), wybrać **Exit** (Wyjdź).

## Konfiguracja aktualizacji oprogramowania

System może automatycznie sprawdzać dostępność aktualizacji oprogramowania i pobierać je, aby umożliwić ich instalację przez użytkownika, lub użytkownik może sprawdzać ich dostępność ręcznie. Więcej informacji na ten temat znajduje się w części *Aktualizacje oprogramowania na stronie 35*.

- 1 W menu oprogramowania sterującego wybrać **System Settings** (Ustawienia systemu).
- 2 Wybrać kartę Customization (Dostosowanie).
- 3 Wybrać, czy system ma automatycznie sprawdzać dostępność aktualizacji oprogramowania:
  - ▶ W celu sprawdzania automatycznego zaznaczyć pole wyboru **Autocheck for software updates** (Automatycznie sprawdzaj dostępność aktualizacji oprogramowania).
  - ▶ W celu sprawdzania ręcznego usunąć zaznaczenie pola wyboru **Autocheck for software updates** (Automatycznie sprawdzaj dostępność aktualizacji oprogramowania).Funkcja automatycznego sprawdzania wymaga połączenia internetowego.
- 4 Wybrać **Save** (Zapisz).
- 5 Aby zamknąć obszar System Settings (Ustawienia systemu), wybrać **Exit** (Wyjdź).

## Konfigurowanie sieci

Do obsługi systemu i przesyłania danych wymagane jest wyłącznie połączenie Wi-Fi lub Ethernet z domyślnymi ustawieniami sieciowymi. Ustawienia te nie muszą być aktualizowane, chyba że konkretna placówka ma niestandardowe wymagania dotyczące sieci. W takim wypadku należy skontaktować się z przedstawicielem działu IT placówki, aby uzyskać pomoc przy zmianie domyślnych ustawień sieciowych.

Wytyczne dotyczące ustawień sieciowych i kontrolowania bezpieczeństwa komputera zawiera *Przewodnik dotyczący przygotowania miejsca instalacji sekwenatora iSeq 100 (nr dokumentu: 1000000035337)*.

## Określanie lokalizacji folderu wyjściowego

Usługa Universal Copy Service służy do kopiowania plików wyjściowych sekwencjonowania z folderu przebiegu na platformę BaseSpace Sequence Hub (jeśli dotyczy) oraz do folderu wyjściowego, w którym są one dostępne dla użytkownika.

Folder wyjściowy jest wymagany, jeśli na platformie BaseSpace Sequence Hub nie skonfigurowano analizy, współpracy, zapisywania ani monitorowania przebiegu. Jeśli lokalizacja folderu wyjściowego nie jest określona, usługa Universal Copy Service kopiuje pliki do folderu D:\SequencingRuns.

- 1 W menu oprogramowania sterującego wybrać **System Settings** (Ustawienia systemu).
- 2 Wybrać kartę Network Access (Dostęp do sieci).
- 3 Wprowadzić domyślną lokalizację w polu Output Folder (Folder wyjściowy) lub wybrać **Browse** (Przeglądaj), aby przejść do lokalizacji.
  - ▶ **Internal drive** (Dysk wewnętrzny) — wprowadzić istniejącą lokalizację na dysku D. Na dysku C jest za mało miejsca.
  - ▶ **External drive** (Dysk zewnętrzny) — wprowadzić lokalizację pamięci USB podłączonej do aparatu.
  - ▶ **Network location** (Lokalizacja sieciowa) — wprowadzić lokalizację sieciową.Lokalizację domyślną można zmieniać dla każdego przebiegu.

- 4 Wykonać poniższe czynności.
  - ▶ Jeśli wybrano lokalizację na dysku wewnętrznym lub zewnętrznym, wybrać **Save** (Zapisz), a następnie **Exit** (Wyjdź), aby zapisać lokalizację i zamknąć obszar System Settings (Ustawienia systemu).
  - ▶ W przypadku wskazania lokalizacji sieciowej kontynuować procedurę, przechodząc do punktu 5–8 w celu połączenia usługi Universal Copy Service z kontem, które ma dostęp do wskazanej lokalizacji.
- 5 W aplikacji Universal Copy Service wybrać rodzaj konta:
  - ▶ **Local System Account** (Lokalne konto systemowe) — folder wyjściowy jest zapisany w katalogu, do którego można uzyskać dostęp przy użyciu lokalnego konta z uprawnieniami dostępu do większości lokalnych lokalizacji.
  - ▶ **Network Account** (Konto sieciowe) — folder wyjściowy jest zapisany w katalogu, który w celu uzyskania dostępu wymaga podania danych logowania.

To ustawienie obowiązuje w przypadku domyślnej lokalizacji folderu wyjściowego oraz każdej lokalizacji określonej na etapie konfiguracji przebiegu.
- 6 W przypadku wybrania opcji Network Account (Konto sieciowe) wprowadzić nazwę użytkownika i hasło do konta.
- 7 Wybrać **Save** (Zapisz).
- 8 Aby zamknąć obszar System Settings (Ustawienia systemu), wybrać **Exit** (Wyjdź).

## Nawiązywanie połączenia z Internetem

Połączenie z siecią Wi-Fi lub Ethernet należy skonfigurować w obszarze ustawień sieci i Internetu w systemie Windows, który można otwierać z poziomu oprogramowania sterującego. Domyślne połączenie z siecią Ethernet umożliwia przesył danych w sposób bardziej niezawodny.

- 1 W menu oprogramowania sterującego wybrać **System Settings** (Ustawienia systemu).
- 2 Wybrać kartę Network Access (Dostęp do sieci).
- 3 Wybrać **Network Configuration** (Konfiguracja sieci), co spowoduje zminimalizowanie oprogramowania sterującego i otwarcie ustawień sieciowych i internetowych w systemie Windows.
- 4 Skonfigurować połączenie z siecią Wi-Fi lub Ethernet.
  - ▶ W przypadku konfigurowania sieci Wi-Fi zmienić opcję adaptera na **Wi-Fi**.
  - ▶ Szczegółowe instrukcje dotyczące konfiguracji zawiera pomoc systemu Windows 10 w witrynie firmy Microsoft.
- 5 Po zakończeniu konfiguracji zamknąć ustawienia systemu Windows i zmaksymalizować oprogramowanie sterujące.
- 6 Na karcie Network Access (Dostęp do sieci) wybrać **Save** (Zapisz).
- 7 Aby zamknąć obszar System Settings (Ustawienia systemu), wybrać **Exit** (Wyjdź).

## Nawiązywanie połączenia z serwerem proxy

- 1 Zminimalizować oprogramowanie sterujące.
- 2 Z menu Start systemu Windows otworzyć okno dialogowe Run (Uruchamianie).
- 3 Wpisać **cmd**, a następnie wybrać **OK**.
- 4 Wpisać poniższe polecenie:

```
C:\windows\System32\bitsadmin.exe /Util /SetIEProxy LocalSystem Manual_
proxy http://<serwer_proxy>:<port proxy> NULL
```

- Zastąpić `http://<serwer_proxy>:<port proxy>` adresem i portem serwera proxy, a następnie wyraz `NULL` zastąpić parametrami dowolnych wymaganych obejm.
- Nacisnąć Enter, aby uruchomić polecenie.
- Wyłączyć i ponownie włączyć aparat. Instrukcje zawiera część *Wyłączenie i ponowne włączenie aparatu na stronie 48*.

## Materiały eksploatacyjne i wyposażenie dostarczane przez użytkownika

### Materiały eksploatacyjne do sekwencjonowania

Materiał eksploatacyjny	Dostawca	Cel
Rękawice jednorazowe, bez talku	Ogólny dostawca laboratoryjny	Ogólne przeznaczenie.
Odczynnik iSeq 100 i1, wer. 2	Nr katalogowy firmy Illumina: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 20031371 (300 cykli, opakowanie 1 szt.)</li> <li>• 20031374 (300 cykli, opakowanie 4 szt.)</li> <li>• 20040760 (300 cykli, opakowanie 8 szt.)</li> </ul>	Zapewnia odczynniki i komorę przepływową do przebiegu.
Mikropróbki, 1,5 ml	Fisher Scientific, nr kat. 14-222-158 lub równoważne próbki o zmniejszonym przyleganiu próbki do powierzchni	Rozcieńczanie bibliotek do stężenia ładowania.
Ręczniki papierowe	Ogólny dostawca laboratoryjny	Suszenie kasety po kąpieli wodnej.
Końcówki do pipety, 20 µl	Ogólny dostawca laboratoryjny	Rozcieńczanie i ładowanie bibliotek.
Końcówki do pipety, 100 µl	Ogólny dostawca laboratoryjny	Rozcieńczanie i ładowanie bibliotek.
Bufor do ponownego zawieszania (RSB)	Illumina, dostarczany z zestawami do przygotowywania bibliotek	Rozcieńczanie bibliotek do stężenia ładowania.
<b>(Opcjonalnie)</b> 10 mM Tris-HCl, pH 8,5	Ogólny dostawca laboratoryjny	Zamiennik bufora do ponownego zawieszania (ang. resuspension buffer, RSB) do rozcieńczania bibliotek do stężenia ładowania.
<b>(Opcjonalnie)</b> PhiX Control v3	Illumina, nr kat. FC-110-3001	Wykonywanie przebiegów tylko z biblioteką PhiX lub roztworem specjalnym PhiX.

### Materiały eksploatacyjne do konserwacji i rozwiązywania problemów

Materiał eksploatacyjny	Dostawca	Cel
Chusteczki nasączone 10% wybielaczem	WWR, nr kat. 16200-218 (lub równoważne)	Odkazanie aparatu i czyszczenie powierzchni roboczych.
Rękawice jednorazowe, bez talku	Ogólny dostawca laboratoryjny	Ogólne przeznaczenie.
Zapasowa podkładka do tacki ociekowej systemu iSeq 100 <sup>1</sup>	Illumina, nr kat. 20023927	Wyścielanie tacki ociekowej w celu wchłaniania wszelkich wyciekłych płynów.

Material eksploatacyjny	Dostawca	Cel
Zapasowy filtr powietrza systemu iSeq 100 <sup>1</sup>	llumina, nr kat. 20023928	Wymiana filtra powietrza co 6 miesięcy.
Zestaw testowy systemu iSeq 100 <sup>2</sup>	llumina, nr kat. 20024141	Przeprowadzanie kontroli systemu.
Chusteczki nasączone 70% alkoholem izopropylowym	VWR, nr kat. 95041-714 (lub równoważne)	Czyszczenie aparatu i testowej komory przepływowej wielokrotnego użytku.
Chusteczki laboratoryjne, niestrzępiące się	VWR, nr kat. 21905-026 (lub równoważne)	Suszenie tacki ociekowej i testowej komory przepływowej wielokrotnego użytku.
Ręczniki papierowe	Ogólny dostawca laboratoryjny	Osuszanie płynu wokół aparatu.
<b>(Opcjonalnie)</b> 10% roztwór wybielacza	VWR, nr kat. 16003-740 (32 uncje), 16003-742 (16 uncji) (lub równoważny)	Czyszczenie powierzchni roboczych po odkażeniu.
<b>(Opcjonalnie)</b> Chusteczki nasączone 70% etanolem	Fisher Scientific, nr kat. 19-037-876 (lub równoważne)	Zamiennik chusteczek nasączanych alkoholem izopropylowym, przeznaczonych do czyszczenia aparatu i testowej komory przepływowej wielokrotnego użytku.

<sup>1</sup> Aparat jest dostarczany z jednym zainstalowanym i jednym zapasowym. W przypadkach nieobjętych gwarancją części zamienne są dostarczane przez użytkownika. Przechowywać w opakowaniu do momentu użycia.

<sup>2</sup> Zastępuje elementy testowe wielokrotnego użytku dostarczane z aparatem po upływie terminu ważności (po 5 latach lub 130 użyciach).

## Wyposażenie

Element	Źródło	Cel
Zamrażarka, od -25°C do -15°C	Ogólny dostawca laboratoryjny	Przechowywanie kasyety.
Pojemnik na lód	Ogólny dostawca laboratoryjny	Odkładanie bibliotek.
Pipeta, 10 µl	Ogólny dostawca laboratoryjny	Rozcieńczanie bibliotek do stężenia ładowania.
Pipeta, 20 µl	Ogólny dostawca laboratoryjny	Rozcieńczanie bibliotek do stężenia ładowania.
Pipeta, 100 µl	Ogólny dostawca laboratoryjny	Rozcieńczanie bibliotek do stężenia ładowania.
Chłodziarka, od 2°C do 8°C	Ogólny dostawca laboratoryjny	Przechowywanie komory przepływowej.
<b>(Opcjonalnie)</b> Klawiatura	Ogólny dostawca laboratoryjny	Uzupełnienie klawiatury ekranowej.
<b>(Opcjonalnie)</b> Mysz	Ogólny dostawca laboratoryjny	Uzupełnienie interfejsu ekranu dotykowego.
<b>(Opcjonalnie)</b> Kąpiel wodna	Ogólny dostawca laboratoryjny	Rozmrażanie kasyety.

# Rozdział 3 Sekwencjonowanie

Wstęp .....	21
Rozmrażanie kasety zapakowanej w torebkę .....	22
Przygotowywanie komory przepływowej i bibliotek .....	23
Ładowanie materiałów eksploatacyjnych do kasety .....	26
Konfiguracja przebiegu sekwencjonowania (Local Run Manager) .....	28
Konfiguracja przebiegu sekwencjonowania (tryb ręczny) .....	31

## Wstęp

Tworzenie klastrów, sekwencjonowanie i analiza stanowią część procesu sekwencjonowania w sekwenatorze iSeq 100. Podczas przebiegu sekwencjonowania każda czynność jest realizowana automatycznie. W zależności od konfiguracji systemu dalsza analiza jest przeprowadzana poza aparatem po zakończeniu przebiegu.

- ▶ **Tworzenie klastrów** — biblioteka jest automatycznie denaturowana do pojedynczych nici i dodatkowo rozcieńczana w aparacie. Podczas tworzenia klastrów pojedyncze cząsteczki DNA wiążą się z powierzchnią w komorze przepływowej i ulegają amplifikacji, tworząc klastry.
- ▶ **Sekwencjonowanie** — klastry są obrazowane z zastosowaniem techniki oznaczania jednobarwnikowego, która wykorzystuje jeden znacznik fluorescencyjny i dwa cykle obrazowania do kodowania danych dla czterech nukleotydów. W pierwszym cyklu obrazowania jest wykrywana adenina (A) i tymina (T). W następnym cyklu chemicznym barwnik jest odłączany od adeniny (A), a jednocześnie podobny barwnik jest dodawany do cytozyny (C). Podczas drugiego cyklu obrazowania wykrywane są zasady C i T. Po drugim cyklu obrazowania oprogramowanie Real-Time Analysis przeprowadza rozpoznawanie nukleotydów, filtrowanie i ocenę jakościową. Ten proces jest powtarzany dla każdego cyklu sekwencjonowania. Więcej informacji na temat techniki oznaczania jednobarwnikowego zawiera część *Rozpoznawanie nukleotydów na stronie 44*.
- ▶ **Analiza** — w trakcie postępu przebiegu oprogramowanie sterujące automatycznie przesyła pliki rozpoznania nukleotydów (\*.bcl) do wskazanego folderu wyników w celu analizy danych. Metoda analizy danych zależy od aplikacji oraz konfiguracji systemu.

## Objętość i stężenie ładowania

Objętość ładowania wynosi 20 µl. Stężenie ładowania zależy od typu biblioteki i kasety.



### UWAGA

W przypadku znalezienia optymalnego stężenia ładowania, które jest skuteczne dla odczynnika iSeq 100 i1 w wer. 1, zaleca się rozpoczęcie od tego samego stężenia ładowania podczas wykonywania sekwencjonowania przy użyciu odczynnika iSeq 100 i1 w wer. 2.

Typ biblioteki	Stężenie ładowania (pM)
Kontrola PhiX 100% (w przypadku przebiegu tylko z kontrolą PhiX)	100
AmpliSeq Library PLUS for Illumina	40–60
Nextera DNA Flex	75–125
Nextera Flex for Enrichment	50–100
Nextera XT DNA	100–200
TruSeq DNA Nano	125–175
TruSeq DNA PCR-Free	75–125

Dla innych rodzajów bibliotek zalecane przez firmę Illumina początkowe stężenie ładowania wynosi 50 pM. To stężenie należy zoptymalizować podczas kolejnych przebiegów w celu określenia stężenia ładowania, które umożliwi powtarzalne uzyskiwanie danych spełniających wymagania specyfikacji.

Stężenia ładowania, które są zbyt wysokie lub zbyt niskie, powodują nieoptymalne klastrowanie i nieoptymalne metryki przebiegów. Więcej informacji zawiera dokument *Cluster Optimization Overview Guide (Przegląd informacji dotyczących optymalizacji klastrów – przewodnik)* (dokument nr 1000000071511).

## Zalecana liczba cykli

Dla każdego odczytu należy wprowadzić co najmniej 26 cykli i maksymalnie 151 cykli w celu optymalizacji jakości danych. Dokładna liczba cykli zależy od badania.

Minimalna i maksymalna liczba cykli uwzględniają dodatkowy cykl. Do żądanej długości odczytu należy zawsze dodać jeden cykl w celu skorygowania efektów fazowania i fazowania wyprzedzającego. Długość odczytu to liczba cykli **sekwencjonowania** w odczycie 1 i odczycie 2, co nie obejmuje cykli dodatkowych ani cykli indeksowania.

Przykładowe konfiguracje przebiegu:

- ▶ Przy długości odczytu 36 (pojedynczy odczyt) wprowadzić wartość **37** w polu Read 1 (Odczyt 1).
- ▶ W przypadku długości odczytu 150 na odczyt (sekwencjonowanie w trybie sparowanych końców) wprowadzić wartość **151** w polu Read 1 (Odczyt 1) oraz wartość **151** w polu Read 2 (Odczyt 2).

## Wymagania dotyczące sekwencjonowania

- ▶ Podczas posługiwania się odczynnikiem i innymi substancjami chemicznymi należy nosić okulary ochronne, fartuch laboratoryjny i rękawiczki bez talku. Po wyświetleniu monitu należy zmieniać rękawiczki, aby zapobiec zanieczyszczeniu krzyżowemu.
- ▶ Przed rozpoczęciem protokołu należy upewnić się, że wymagane materiały eksploatacyjne i wyposażenie są na miejscu. Zobacz *Materiały eksploatacyjne i wyposażenie dostarczane przez użytkownika na stronie 19*.
- ▶ Należy postępować zgodnie z protokołami w podanej kolejności, stosując podane objętości, temperatury i czasy trwania.
- ▶ O ile nie wyszczególniono punktu zatrzymania, należy natychmiast przejść do następnego etapu.
- ▶ **Jeśli kasetę ma być rozmrażana w kąpiel wodnej**, wówczas przed rozmrażaniem kasetę należy przechowywać w temperaturze od  $-25^{\circ}\text{C}$  do  $-15^{\circ}\text{C}$  przez co najmniej 1 dobę. Kąpiel wodna jest najszybszą z trzech metod rozmrażania.

## Rozmrażanie kasety zapakowanej w torebkę

- 1 Założyć nowe rękawiczki bez talku.
- 2 Wyjąć kasetę z miejsca przechowywania w temperaturze od  $-25^{\circ}\text{C}$  do  $-15^{\circ}\text{C}$ .

- 3 Jeśli kasetę jest w pudełku, należy wyjąć ją z pudełka, ale **nie należy otwierać białej torebki foliowej**.



- 4 Rozmrozić zapakowaną w torebkę kasetę, stosując jedną z poniżej opisanych metod. Zużyć natychmiast po rozmrożeniu bez ponownego zamrażania lub przechowywania w inny sposób.

Metoda	Czas rozmrażania	Instrukcja
Łażnia wodna o temperaturze od 20°C do 25°C	6 godzin, nie przekraczać 18 godzin	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Użyć 6 l wody na jedną kasetę.</li> <li>• Ustawić kąpiel wodną z kontrolowaną temperaturą na 25°C <b>lub</b> wymieszać gorącą i zimną wodę, aby uzyskać temperaturę wynoszącą od 20°C do 25°C.</li> <li>• Całkowicie zanurzyć kasetę skierowaną etykietą do góry i zastosować obciążnik o masie około 2 kg, aby zapobiec jej wypłynięciu.</li> <li>• Nie układać kaset jedna na drugą w kąpeli wodnej, która nie ma kontrolowanej temperatury.</li> </ul>
Chłodziarka, od 2°C do 8°C	36 godzin, nie przekraczać 1 tygodnia	Ułożyć kasetę w taki sposób, aby etykieta była skierowana do góry, a powietrze mogło ją opływać z każdej strony, również od dołu.
Powietrze w temperaturze pokojowej	9 godzin, nie przekraczać 18 godzin	Ułożyć kasetę w taki sposób, aby etykieta była skierowana do góry, a powietrze mogło ją opływać z każdej strony, również od dołu.



#### PRZESTROGA

Rozmrażanie kasety w kąpeli wodnej bezpośrednio po dostarczeniu, po przechowywaniu jej w suchym lodzie, może niekorzystnie wpłynąć na działanie. Przed rozmrożeniem przechowywać w temperaturze od -25°C do -15°C przez co najmniej 1 dzień.

- 5 Jeśli po kąpeli wodnej kasetę jest mokra, wytrzeć ją papierowymi ręcznikami.

## Przygotowywanie komory przepływowej i bibliotek

Przed załadowaniem komory przepływowej i bibliotek do kasety należy odczekać, aż komora przepływowa osiągnie temperaturę pokojową, rozcieńczyć biblioteki i (opcjonalnie) wykonać domieszkę kontroli PhiX. Biblioteki są denaturowane automatycznie w aparacie.

Instrukcje rozcieńczania dotyczą obsługiwanych bibliotek firmy Illumina, które są dwuniciowe. Zawsze należy wykonać analizę kontroli jakości, optymalizować stężenie ładowania w odniesieniu do danej biblioteki oraz stosować metodę normalizacji, która generuje biblioteki dwuniciowe. Normalizacja oparta na nośniku generująca biblioteki jednoniciowe nie jest kompatybilna z denaturacją w aparacie.



## Rozcieńczanie biblioteki do stężenia 1 nM

- Przygotować komorę przepływową zgodnie z poniższą instrukcją.
  - Wyjąć nową komorę przepływową z miejsca przechowywania w temperaturze od 2°C do 8°C.
  - Odłożyć nieotwarte opakowanie na 10–15 minut w temperaturze pokojowej.
- Wyjąć bufor do ponownego zawieszania (RSB) z miejsca przechowywania w temperaturze od –25°C do –15°C. Zamiast bufora RSB można użyć roztworu 10 mM Tris-HCl, pH 8,5.
- (Opcjonalnie)** Wyjąć zapas 10 nM kontroli PhiX i bufora RSB z miejsca przechowywania w temperaturze od –25°C do –15°C.  
Kontrola PhiX jest wymagana tylko jako opcjonalna domieszka lub podczas przebiegu tylko z kontrolą PhiX.
- Rozmrażać bufor do ponownego zawieszania i opcjonalną kontrolę PhiX w temperaturze pokojowej przez 10 minut.
- W mikroprobówce *o zmniejszonym przyleganiu próbki do powierzchni* rozcieńczyć bibliotekę o stężeniu 1 nM w buforze do odpowiedniej objętości:

Typ biblioteki	Objętość biblioteki o stężeniu 1 nM (µl)*
Kontrola PhiX 100% (w przypadku przebiegu tylko z kontrolą PhiX)	12
AmpliSeq Library PLUS for Illumina	7
Nextera DNA Flex	12
Nextera Flex for Enrichment	10
Nextera XT DNA	20
TruSeq DNA Nano	20
TruSeq DNA PCR-Free	12

\* W objętościach uwzględniono nadwyżkę dla dokładnego pipetowania.

Pomyślne wykonanie sekwencjonowania jest uzależnione od rozcieńczenia bibliotek w mikroprobówkach o zmniejszonym przyleganiu próbki do powierzchni.

- Krótko wymieszać mieszadłem wirowym, a następnie wirować z przyspieszeniem 280 × g przez 1 minutę.
- (Opcjonalnie)** Bibliotekę o stężeniu 1 nM można przechowywać w temperaturze od –25°C do –15°C przez maksymalnie 1 miesiąc.

## Rozcieńczanie biblioteki o stężeniu 1 nM do stężenia ładowania

- W celu przygotowania 100 µl biblioteki rozcieńczonej do odpowiedniego stężenia ładowania należy połączyć w mikroprobówce o zmniejszonym przyleganiu próbki do powierzchni podane poniżej objętości:

Typ biblioteki*	Stężenie ładowania (pM)	Objętość biblioteki 1 nM (µl)	Objętość bufora RSB (µl)
Kontrola PhiX 100% (w przypadku przebiegu tylko z kontrolą PhiX)	100	10	90
AmpliSeq Library PLUS for Illumina	40–60	5	95
Nextera DNA Flex	75–125	10	90
Nextera Flex for Enrichment	50–100	7,5	92,5
Nextera XT DNA	100–200	15	85

Typ biblioteki*	Stężenie ładowania (pM)	Objętość biblioteki 1 nM (μl)	Objętość bufora RSB (μl)
TruSeq DNA Nano	125–175	15	85
TruSeq DNA PCR-Free	75–125	10	90

W tych tabelach podano przykładowe stężenia ładowania. System iSeq 100 jest kompatybilny ze wszystkimi zestawami firmy Illumina do przygotowywania biblioteki oprócz SureCell WTA 3', ale optymalne stężenia ładowania mogą być różne.

- 2 Krótco wymieszać mieszadłem wirowym, a następnie wirować z przyspieszeniem 280 × g przez 1 minutę.
- 3 Odłożyć na lód rozcieńczoną bibliotekę do sekwencjonowania. Biblioteki należy poddać sekwencjonowaniu tego samego dnia, w którym zostały rozcieńczone.
- 4 Jeśli *nie* dodaje się kontroli PhiX albo wykonywany jest przebieg tylko z kontrolą PhiX, należy pominąć kolejną część i postępować zgodnie z częścią *Ładowanie materiałów eksploatacyjnych do kasety na stronie 26*.

## Dodawanie biblioteki kontrolnej PhiX Control (opcjonalnie)

PhiX to mała, gotowa do użycia biblioteka firmy Illumina ze zrównoważonym odwzorowaniem nukleotydów. Dodanie domieszki 2% kontroli PhiX do biblioteki zapewnia dodatkowe pomiary. W przypadku bibliotek o niskim zróżnicowaniu należy zastosować domieszkę 10%, aby zwiększyć zróżnicowanie nukleotydów.



### UWAGA

Domieszka 1% jest skuteczna w zapewnieniu dodatkowych pomiarów, ale utrudnia pipetowanie.

- 1 Podane poniżej objętości połączyć w mikroprobówce o zmniejszonym przyleganiu próbki do powierzchni w celu przygotowania 50 μl 1 nM kontroli PhiX:
  - ▶ 10 nM PhiX (5 μl)
  - ▶ RSB (45 μl)
- 2 Krótco wymieszać mieszadłem wirowym, a następnie wirować z przyspieszeniem 280 × g przez 1 minutę.
- 3 **(Opcjonalnie)** Kontrolę PhiX o stężeniu 1 nM można przechowywać w temperaturze od –25°C do –15°C przez maksymalnie 1 miesiąc.
- 4 W mikroprobówce o zmniejszonym przyleganiu próbki do powierzchni połączyć kontrolę PhiX o stężeniu 1 nM i bufor RSB w celu przygotowania 100 μl kontroli PhiX rozcieńczonej do tego samego stężenia, co biblioteka.

Na przykład:

Stężenie ładowania PhiX (pM)	Objętość 1 nM PhiX (μl)	Objętość bufora RSB (μl)
25	2,5	97,5
50	5	95
70	7	93
80	8	92
100	10	90
115	11,5	88,5
200	20	80

5 Łączenie kontroli PhiX i biblioteki:

- ▶ W przypadku domieszki 2% należy dodać 2 µl rozcieńczonej kontroli PhiX do 100 µl rozcieńczonej biblioteki.
- ▶ W przypadku domieszki 10% należy dodać 10 µl rozcieńczonej kontroli PhiX do 100 µl rozcieńczonej biblioteki.

Rzeczywisty procent kontroli PhiX różni się w zależności od jakości i ilości biblioteki.

- 6 Krótco wymieszać mieszadłem wirowym, a następnie wirować z przyspieszeniem  $280 \times g$  przez 1 minutę.
- 7 Odłożyć na lód bibliotekę z domieszką kontroli PhiX.

## Ładowanie materiałów eksploatacyjnych do kasety

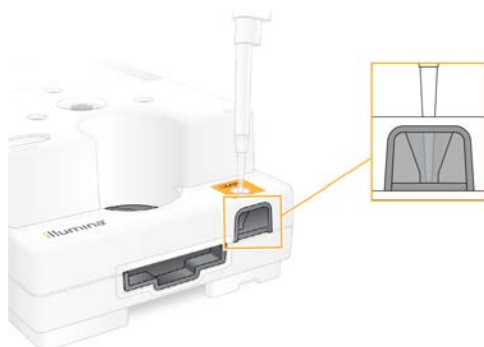
- 1 **(Opcjonalnie)** Aby wyświetlić film instruktażowy dotyczący przygotowania i ładowania kasety, wybrać **Sequence** (Sekwencjonowanie).
- 2 Otworzyć torebkę kasety, rozrywając ją w miejscach nacięcia.
- 3 Unikając dotykania okna dostępu w górnej części kasety, wyjąć kasetę z torebki. Wyrzucić torebkę.
- 4 Wymieszać odczynniki, odwracając kasetę pięciokrotnie.  
Podczas odwracania elementy wewnętrzne mogą grzechotać, co jest normalnym zjawiskiem.
- 5 Stuknąć kasetą (z etykietą skierowaną ku górze) o blat lub inną twardą powierzchnię pięć razy, aby zapewnić możliwość aspiracji odczynnika.

## Ładowanie biblioteki

- 1 Za pomocą nowej końcówki pipety przebić zbiorniczek na bibliotekę i odsunąć folię w kierunku krawędzi w celu powiększenia otworu.



- 2 Wyrzucić końcówkę pipety, aby zapobiec zanieczyszczeniu.
- 3 Dodać 20 µl rozcieńczonej biblioteki na **dno** zbiorniczka. Nie dotykać folii.

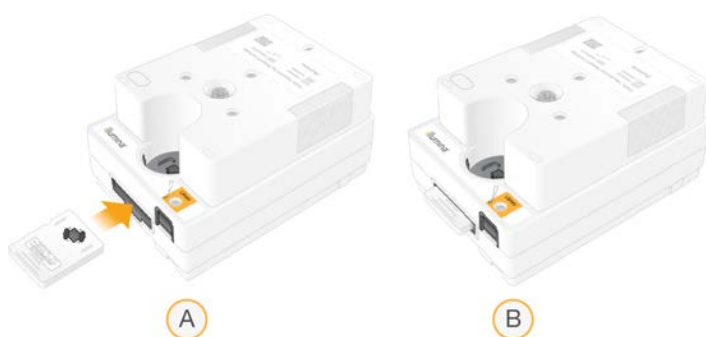


## Ładowanie komory przepływowej

- 1 Otworzyć białe foliowe opakowanie, rozrywając je w miejscu nacięcia. Użyć w ciągu 24 godzin od otwarcia.
- 2 Wyjąć komorę przepływową z opakowania.
  - ▶ Podczas posługiwania się komorą przepływową należy dotykać wyłącznie jej plastikowej części.
  - ▶ Należy unikać dotykania interfejsu elektrycznego, czujnika CMOS, szkła oraz uszczelek z obu stron szkła.



- 3 Trzymać komorę przepływową za punkty uchwytu, z etykietą skierowaną ku górze.
- 4 Umieścić komorę przepływową w gnieździe z przodu kasety.  
Słyszalne kliknięcie wskazuje, że komora przepływowa jest na swoim miejscu. Po prawidłowym załadunku uchwyt będzie wystawał z kasety, a szkło będzie widoczne w oknie dostępu.



- A Ładowanie komory przepływowej  
B Załadowana komora przepływowa

- 5 Zutilizować opakowanie według poniższych instrukcji.
  - a Wyjąć kasetkę z foliowego opakowania.
  - b Usunąć środek suszący z kasetki.
  - c Poddać kasetkę recyklingowi, a foliowe opakowanie i środek suszący wyrzucić.
- 6 Dalsze czynności wykonać w zależności od tego, czy system jest zintegrowany z oprogramowaniem Local Run Manager:
  - ▶ Jeśli używane jest oprogramowanie Local Run Manager, należy postępować według instrukcji w części *Konfiguracja przebiegu sekwencjonowania (Local Run Manager)* na stronie 28.
  - ▶ Jeśli oprogramowanie Local Run Manager nie jest używane, należy postępować według instrukcji w części *Konfiguracja przebiegu sekwencjonowania (tryb ręczny)* na stronie 31.

## Konfiguracja przebiegu sekwencjonowania (Local Run Manager)

Skonfigurowanie przebiegu z użyciem oprogramowania Local Run Manager obejmuje utworzenie i zapisanie przebiegu w oprogramowaniu Local Run Manager, a następnie powrót do oprogramowania sterującego w celu załadowania materiałów eksploatacyjnych i wybrania przebiegu. Dane są zapisywane we wskazanym folderze wyjściowym dla analiz, co oprogramowanie Local Run Manager wykonuje automatycznie po zakończeniu przebiegu.

- 1 Otworzyć oprogramowanie Local Run Manager lokalnie na monitorze aparatu lub zdalnie z poziomu innego komputera.

Dostęp	Otwarcie oprogramowania Local Run Manager
Lokalny	W menu oprogramowania sterującego wybrać <b>Local Run Manager</b> , a następnie opcję <b>Open Local Run Manager</b> (Otwórz program Local Run Manager).
Zdalny	W menu oprogramowania sterującego wybrać <b>About</b> (Informacje) w celu uzyskania adresu IP systemu. Na komputerze podłączonym do tej samej sieci co aparat otworzyć oprogramowanie Local Run Manager w przeglądarce Chromium. Użyć adresu IP systemu w celu nawiązania połączenia.

- 2 Jeśli okno przeglądarki Chromium jest puste na monitorze aparatu, wyłączyć i ponownie włączyć aparat, a następnie ponownie uruchomić konfigurację przebiegu. Instrukcje zawiera część *Wyłączenie i ponowne włączenie aparatu na stronie 48*.
- 3 Utworzyć i zapisać przebieg w oprogramowaniu Local Run Manager.
  - ▶ Instrukcje zawiera dokument *Local Run Manager Software Guide (Instrukcja obsługi oprogramowania Local Run Manager)* (nr dokumentu: 1000000002702).
  - ▶ Skonfigurować przebieg tylko z kontrolą PhiX bez indeksowania.
 Oprogramowanie Local Run Manager automatycznie prześle zapisane przebiegi do oprogramowania sterującego.
- 4 W oprogramowaniu sterującym wybrać **Sequence** (Sekwencjonowanie). Oprogramowanie spowoduje otwarcie drzwiczek pod kątem oraz wysunięcie tacy i zapoczątkuje wyświetlanie ciągu ekranów konfiguracji przebiegu.
- 5 **(Opcjonalnie)** Wybrać opcję **Help** (Pomoc), aby zapoznać się z poleceniem wyświetlanym na ekranie. Na każdym ekranie będą pojawiać się okna pomocy zawierające pomocnicze wskazówki.

## Ładowanie kasety do aparatu

- 1 Upewnić się, że kaseeta jest rozmrożona i zawiera komorę przepływową oraz rozcieńczoną bibliotekę.
- 2 Umieścić kasetę na tacce w taki sposób, aby okno dostępu było skierowane ku górze, a komora przepływowa znajdowała się wewnątrz aparatu. Nie wciskać kasety ani tacki do aparatu.



- 3 Wybrać opcję **Close Door** (Zamknij drzwiczki), aby wycofać kasetę i zamknąć drzwiczki. Po lewej stronie ekranu zostanie wyświetlony panel z danymi zeskanowanych materiałów eksploatacyjnych.

## Rejestracja na platformie BaseSpace Sequence Hub

Ekran platformy BaseSpace Sequence Hub jest wyświetlany, gdy w systemie skonfigurowano funkcję monitorowania przebiegu lub jego monitorowania i zapisu.

- 1 Aby odłączyć bieżący przebieg od platformy BaseSpace Sequence Hub, wybrać **Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In** (Pomiń logowanie do platformy BaseSpace Sequence Hub). Dane dotyczące działania aparatu nadal są wysyłane do firmy Illumina.
- 2 Aby zmienić status połączenia dla bieżącego przebiegu, wybrać opcję konfiguracji:
  - ▶ **Run Monitoring Only** (Tylko monitorowanie przebiegu) — na platformę BaseSpace Sequence Hub wysyłane są wyłącznie pliki InterOp w celu umożliwienia zdalnego monitorowania.
  - ▶ **Run Monitoring and Storage** (Monitorowanie i zapis przebiegu) — wysyłanie danych przebiegu na platformę BaseSpace Sequence Hub w celu umożliwiania zdalnego monitorowania i analizy.
- 3 Wprowadzić swoje poświadczenia dostępu do platformy BaseSpace Sequence Hub, a następnie wybrać **Sign In** (Zaloguj).
- 4 Jeśli zostanie wyświetlona lista Available Workgroups (Dostępne grupy robocze), wybrać grupę roboczą, do której mają zostać wczytane dane przebiegu. Lista ta pojawia się, jeśli użytkownik należy do kilku grup roboczych.
- 5 Wybrać **Run Setup** (Konfiguracja przebiegu).

## Wybór przebiegu

- 1 Jeśli wyświetli się ekran logowania do oprogramowania Local Run Manager:

- a Wprowadzić nazwę użytkownika i hasło oprogramowania.
- b Wybrać **Log In** (Zaloguj się).

Ten ekran jest wyświetlany w przypadku, gdy dla oprogramowania Local Run Manager skonfigurowano wymóg logowania. Domyślnie logowanie się nie jest wymagane.

- 2 Wybrać przebieg z listy Run Name (Nazwa przebiegu), na której są widoczne przebiegi zapisane w oprogramowaniu Local Run Manager.
  - ▶ Aby wyświetlić zaktualizowaną listę, wybrać **Refresh** (Odśwież).
  - ▶ Aby zapełnić pustą listę, wybrać **Open Local Run Manager** (Otwórz program Local Run Manager) w celu utworzenia przebiegu.

Wybór opcji Open Local Run Manager (Otwórz program Local Run Manager) spowoduje zminimalizowanie oprogramowania sterującego i otwarcie oprogramowania Local Run Manager w przeglądarce Chromium.

- 3 W przypadku wyjścia z oprogramowania sterującego w celu utworzenia przebiegu powrócić do tego oprogramowania i wybrać przebieg. Aby zaktualizować listę, wybrać opcję **Refresh** (Odśwież).
- 4 **(Opcjonalnie)** Wybrać **Edit** (Edytuj) i zmodyfikować parametry przebiegu:
  - a Aby zmienić parametr Read Type (Typ odczytu), wybrać **Single Read** (Pojedynczy odczyt) lub **Paired End** (Sparowane końce).

- b Aby zmienić parametr Read Cycle (Cykl odczytu), wprowadzić wartość z przedziału **26–151** dla liczby cykli w odczytach Read 1 (Odczyt 1) i Read 2 (Odczyt 2). Dodać jeden cykl do żądanej liczby cykli.
  - c Aby zmienić lokalizację folderu wyjściowego dla bieżącego przebiegu, wprowadzić ścieżkę dla lokalizacji lub wybrać opcję **Browse** (Przeglądaj) i przejść do tej lokalizacji.
  - d Wybrać **Save** (Zapisz), co spowoduje zaktualizowanie przebiegu zarówno w oprogramowaniu sterującym, jak i aplikacji Local Run Manager.
- 5 Wybrać **Start Run** (Rozpocznij przebieg), aby zainicjować wstępny test kontrolny.

## Przegląd wyników wstępnych testów kontrolnych

Wstępne testy kontrolne obejmują kontrolę aparatu i kontrolę przepływu. Kontrola przepływu polega na przebiciu membrany kasety i przepływie odczynnika przez komorę przepływową, w związku z czym po rozpoczęciu nie ma już możliwości ponownego użycia materiałów eksploatacyjnych.

- 1 Poczekać około 15 minut na zakończenie wstępnych testów kontrolnych. Przebieg rozpocznie się automatycznie po pomyślnym ich zakończeniu. Jeśli system nie jest wyciszony, sygnał dzwonka wskazuje, że przebieg się rozpoczął.



### PRZESTROGA

Otwarcie drzwiczek podczas wstępnych testów kontrolnych lub przebiegu może skutkować niepowodzeniem przebiegu.

- 2 W przypadku wystąpienia błędu podczas kontroli aparatu wybrać opcję **Retry** (Ponów próbę), aby ponownie wykonać test kontrolny. Kontrola aparatu poprzedza kontrolę przepływu. Podczas kontroli wyświetlany jest animowany pasek.
- 3 Jeśli wystąpi jakikolwiek błąd, w celu rozwiązywania problemów należy zapoznać się z częścią *Usuwanie komunikatów o błędach* na stronie 47.

## Kontrola postępu przebiegu

- 1 Kontrolować postęp i dane przebiegu w momencie ich wyświetlania na ekranie Sequencing (Sekwencjonowanie) po cyklu 26.

Pomiar	Opis
%Q30 (Read 1) (Odczyt 1)	Odsetek rozpoznań nukleotydów w odczycie 1 z wynikiem jakościowym Q-score $\geq 30$ .
%Q30 (Read 2) (Odczyt 2)	Odsetek rozpoznań nukleotydów w odczycie 2 z wynikiem jakościowym Q-score $\geq 30$ .
% Clusters PF (% klastrów PF)	Procent klastrów, które przeszły przez filtry jakości.
%Occupancy (% udziału)	Procent studzienek kuwety przepływowej, które zawierają klastry.
Projected Total Yield (Prognozowany uzysk całkowity)	Oczekiwana liczba nukleotydów rozpoznanych podczas przebiegu.

- 2 Aby monitorować kopiowanie plików i inne procesy przebiegu, wybrać menu w oprogramowaniu sterującym, a następnie wybrać **Process Management** (Zarządzanie procesem).

## Wyładowanie materiałów eksploatacyjnych

- 1 Po zakończeniu sekwencjonowania wybrać opcję **Eject Cartridge** (Wysuń kasetę). Oprogramowanie wysunie zużytą kasetę z aparatu.

- Wyjąć kasetę z tacy.
  - Wyjąć komorę przepływową z kasety.
  - Zutylizować komorę przepływową, która zawiera elementy elektroniczne, zgodnie z odpowiednimi normami obowiązującymi w regionie.
  - Zutylizować kasetę, która zawiera zużyte odczynniki, zgodnie z odpowiednimi normami obowiązującymi w regionie.
- Płukanie aparatu po zakończeniu przebiegu nie jest wymagane, ponieważ elementy układu przepływowego są usuwane wraz z kasetą.



#### OSTRZEŻENIE

Ten zestaw odczynników zawiera potencjalnie niebezpieczne substancje chemiczne. Wdychanie, połknięcie, kontakt ze skórą i oczami mogą powodować uszczerbek na zdrowiu. Należy nosić wyposażenie ochronne, w tym ochronę oczu, rękawiczki oraz fartuch laboratoryjny odpowiednie do ryzyka narażenia. Zużyte odczynniki należy traktować jako odpady chemiczne i utylizować je zgodnie z odpowiednimi przepisami regionalnymi, krajowymi i lokalnymi. Dodatkowe informacje dotyczące ochrony środowiska, zdrowia i bezpieczeństwa zawiera karta charakterystyki dostępna na stronie [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

- Wybrać **Close Door** (Zamknij drzwiczki), aby ponownie załadować tacę i powrócić do ekranu głównego. Oprogramowanie automatycznie ponownie załaduje tacę, a czujniki potwierdzą usunięcie kasety.

## Konfiguracja przebiegu sekwencjonowania (tryb ręczny)

Konfigurowanie przebiegu w trybie ręcznym oznacza określanie parametrów przebiegu w oprogramowaniu sterującym i wykonanie analizy poza aparatem z użyciem wybranej aplikacji. Oprogramowanie zapisuje dane w folderze wyjściowym na potrzeby analizy. Utworzenie plików FASTQ wymaga dodatkowego etapu.

- Jeśli system jest skonfigurowany w taki sposób, aby wykonywać analizę w ramach przebiegu, współpracę i zapisywanie za pomocą platformy BaseSpace Sequence Hub, wówczas dla przebiegu należy utworzyć arkusz próbek:
  - Pobrać szablon *iSeq 100 System Sample Sheet Template for Manual Mode* (Szablon arkusza próbek systemu iSeq 100 do pracy w trybie ręcznym) ze [strony z zasobami do pobrania dla sekwenatora iSeq 100](#).
  - Zmodyfikować szablon według potrzeb. Upewnić się, że:
    - Sekwencje adaptera Index 2 (i5) (Indeks 2 (i5)) są w prawidłowej orientacji. Informacje na temat orientacji zawiera dokument *Illumina Adapter Sequences (Sekwencje adaptera firmy Illumina)* (nr dokumentu: 100000002694).
    - Wartości w arkuszu próbek odpowiadają wartościom w oprogramowaniu sterującym. Na przykład wprowadzić wartość 151 w polu Read 1 (Odczyt 1) zarówno w arkuszu próbek, jak i na ekranie Run Setup (Konfiguracja przebiegu).
  - Zapisać szablon w pliku o formacie CSV.
- W oprogramowaniu sterującym wybrać **Sequence** (Sekwencjonowanie). Oprogramowanie spowoduje otwarcie drzwiczek pod kątem oraz wysunięcie tacy i zapoczątkuje wyświetlanie ciągu ekranów konfiguracji przebiegu.
- (Opcjonalnie)** Wybrać opcję **Help** (Pomoc), aby zapoznać się z poleceniem wyświetlanym na ekranie. Na każdym ekranie będą pojawiać się okna pomocy zawierające pomocnicze wskazówki.



## Ładowanie kasety do aparatu

- 1 Upewnić się, że kasetka jest rozmrożona i zawiera komorę przepływową oraz rozcieńczoną bibliotekę.
- 2 Umieścić kasetkę na tacce w taki sposób, aby okno dostępu było skierowane ku górze, a komora przepływowa znajdowała się wewnątrz aparatu. Nie wciskać kasetki ani tacki do aparatu.



- 3 Wybrać opcję **Close Door** (Zamknij drzwiczki), aby wyczołfać kasetkę i zamknąć drzwiczki. Po lewej stronie ekranu zostanie wyświetlony panel z danymi zeskanowanych materiałów eksploatacyjnych.

## Rejestracja na platformie BaseSpace Sequence Hub

Ekran platformy BaseSpace Sequence Hub jest wyświetlany, gdy w systemie skonfigurowano funkcję monitorowania przebiegu lub jego monitorowania i zapisu.

- 1 Aby odłączyć bieżący przebieg od platformy BaseSpace Sequence Hub, wybrać **Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In** (Pomiń logowanie do platformy BaseSpace Sequence Hub). Dane dotyczące działania aparatu nadal są wysyłane do firmy Illumina.
- 2 Aby zmienić status połączenia dla bieżącego przebiegu, wybrać opcję konfiguracji:
  - ▶ **Run Monitoring Only** (Tylko monitorowanie przebiegu) — na platformę BaseSpace Sequence Hub wysyłane są wyłącznie pliki InterOp w celu umożliwienia zdalnego monitorowania.
  - ▶ **Run Monitoring and Storage** (Monitorowanie i zapis przebiegu) — wysyłanie danych przebiegu na platformę BaseSpace Sequence Hub w celu umożliwienia zdalnego monitorowania i analizy.
- 3 Wprowadzić swoje poświadczenia dostępu do platformy BaseSpace Sequence Hub, a następnie wybrać **Sign In** (Zaloguj).
- 4 Jeśli zostanie wyświetlona lista Available Workgroups (Dostępne grupy robocze), wybrać grupę roboczą, do której mają zostać wczytane dane przebiegu. Lista ta pojawia się, jeśli użytkownik należy do kilku grup roboczych.
- 5 Wybrać **Run Setup** (Konfiguracja przebiegu).

## Wprowadzanie parametrów przebiegu

- 1 W polu Run Name (Nazwa przebiegu) wprowadzić unikalną nazwę zgodnie z preferencjami w celu zidentyfikowania bieżącego przebiegu. Nazwa przebiegu może zawierać znaki alfanumeryczne, myślniki i podkreślniki.
- 2 Dla parametru Read Type (Typ odczytu) wybrać jedną z następujących opcji:
  - ▶ **Single Read** (Pojedynczy odczyt) — przeprowadzenie jednego odczytu sekwencjonowania, co stanowi opcję szybszą i prostszą.

- ▶ **Paired End** (Sparowane końce) — przeprowadzenie dwóch odczytów sekwencjonowania, co generuje dane o wyższej jakości i umożliwia dokładniejsze dopasowanie.
- 3 W przypadku parametru Read Cycle (Cykl odczytu) wprowadzić liczbę cykli wykonywanych przy każdym odczycie.
    - ▶ W przypadku parametrów Read 1 (Odczyt 1) i Read 2 (Odczyt 2) dodać jeden cykl do żądanej liczby cykli.
    - ▶ W przypadku przebiegu tylko z kontrolą PhiX wprowadzić **0** do obu pól indeksu.

Odczyt	Liczba cykli
Read 1 (Odczyt 1)	26–151
Index 1 (Indeks 1)	Maksymalnie 10
Index 2 (Indeks 2)	Maksymalnie 10
Read 2 (Odczyt 2)	26–151

Read 2 (Odczyt 2) ma zwykle tę samą wartość co Read 1 (Odczyt 1) wraz z cyklem dodatkowym. Index 1 (Indeks 1) sekwencjonuje adapter indeksu i7, a Index 2 (Indeks 2) sekwencjonuje adapter indeksu i5.

- 4 Aby wybrać folder wyjściowy dla bieżącego przebiegu lub załadować arkusz próbek, wybrać **Advanced** (Zaawansowane):
  - ▶ Do pola Output Folder (Folder wyjściowy) wprowadzić ścieżkę do lokalizacji folderu wyjściowego lub wybrać **Browse** (Przeglądaj) i przejść do tego folderu.
  - ▶ Do pola Sample Sheet (Arkusz próbek) wprowadzić ścieżkę do lokalizacji arkusza próbek lub wybrać **Browse** (Przeglądaj) i przejść do tego arkusza.
- 5 Wybrać **Start Run** (Rozpocznij przebieg), aby zainicjować wstępny test kontrolny.

## Przegląd wyników wstępnych testów kontrolnych

Wstępne testy kontrolne obejmują kontrolę aparatu i kontrolę przepływu. Kontrola przepływu polega na przebiciu membrany kasety i przepływie odczynnika przez komorę przepływową, w związku z czym po rozpoczęciu nie ma już możliwości ponownego użycia materiałów eksploatacyjnych.

- 1 Poczekać około 15 minut na zakończenie wstępnych testów kontrolnych. Przebieg rozpocznie się automatycznie po pomyślnym ich zakończeniu. Jeśli system nie jest wyciszony, sygnał dzwonka wskazuje, że przebieg się rozpoczął.



### PRZESTROGA

Otwarcie drzwiczek podczas wstępnych testów kontrolnych lub przebiegu może skutkować niepowodzeniem przebiegu.

- 2 W przypadku wystąpienia błędu podczas kontroli aparatu wybrać opcję **Retry** (Ponów próbę), aby ponownie wykonać test kontrolny. Kontrola aparatu poprzedza kontrolę przepływu. Podczas kontroli wyświetlany jest animowany pasek.
- 3 Jeśli wystąpi jakikolwiek błąd, w celu rozwiązywania problemów należy zapoznać się z częścią *Usuwanie komunikatów o błędach na stronie 47*.

## Kontrola postępu przebiegu

- 1 Kontrolować postęp i dane przebiegu w momencie ich wyświetlania na ekranie Sequencing (Sekwencjonowanie) po cyklu 26.

Pomiar	Opis
%Q30 (Read 1) (Odczyt 1)	Odsetek rozpoznań nukleotydów w odczycie 1 z wynikiem jakościowym Q-score $\geq 30$ .
%Q30 (Read 2) (Odczyt 2)	Odsetek rozpoznań nukleotydów w odczycie 2 z wynikiem jakościowym Q-score $\geq 30$ .
% Clusters PF (% klastrów PF)	Procent klastrów, które przeszły przez filtry jakości.
%Occupancy (% udziału)	Procent studzienek kuwety przepływowej, które zawierają klastry.
Projected Total Yield (Prognozowany uzysk całkowity)	Oczekiwana liczba nukleotydów rozpoznanych podczas przebiegu.

- 2 Aby monitorować kopiowanie plików i inne procesy przebiegu, wybrać menu w oprogramowaniu sterującym, a następnie wybrać **Process Management** (Zarządzanie procesem).

## Wyładowanie materiałów eksploatacyjnych

- 1 Po zakończeniu sekwencjonowania wybrać opcję **Eject Cartridge** (Wysuń kasetę). Oprogramowanie wysunie zużytą kasetę z aparatu.
- 2 Wyjąć kasetę z tacy.
- 3 Wyjąć komorę przepływową z kasety.
- 4 Zutilizować komorę przepływową, która zawiera elementy elektroniczne, zgodnie z odpowiednimi normami obowiązującymi w regionie.
- 5 Zutilizować kasetę, która zawiera zużyte odczynniki, zgodnie z odpowiednimi normami obowiązującymi w regionie.

Płukanie aparatu po zakończeniu przebiegu nie jest wymagane, ponieważ elementy układu przepływowego są usuwane wraz z kasetą.



### OSTRZEŻENIE

Ten zestaw odczynników zawiera potencjalnie niebezpieczne substancje chemiczne. Wdychanie, połknięcie, kontakt ze skórą i oczami mogą powodować uszczerbek na zdrowiu. Należy nosić wyposażenie ochronne, w tym ochronę oczu, rękawiczki oraz fartuch laboratoryjny odpowiednie do ryzyka narażenia. Zużyte odczynniki należy traktować jako odpady chemiczne i utylizować je zgodnie z odpowiednimi przepisami regionalnymi, krajowymi i lokalnymi. Dodatkowe informacje dotyczące ochrony środowiska, zdrowia i bezpieczeństwa zawiera karta charakterystyki dostępna na stronie [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

- 6 Wybrać **Close Door** (Zamknij drzwiczki), aby ponownie załadować tacę i powrócić do ekranu głównego. Oprogramowanie automatycznie ponownie załaduje tacę, a czujniki potwierdzą usunięcie kasety.

# Rozdział 4 Konserwacja

Zwalnianie miejsca na dysku twardym .....	35
Aktualizacje oprogramowania .....	35
Wymiana filtra powietrza .....	37
Zmiana lokalizacji aparatu .....	39

## Zwalnianie miejsca na dysku twardym

Do wykonania przebiegu sekwencjonowanie potrzeba około 2 GB miejsca na dysku twardym. Gdy miejsca na dysku jest mało, należy wykonać poniższe czynności, aby usunąć zakończone przebiegi i zwolnić miejsce.

- 1 W menu oprogramowania sterującego wybrać **Process Management** (Zarządzanie procesem). Wyświetlony zostanie ekran Process Management (Zarządzanie procesem) z listą przebiegów zapisanych na dysku twardym.
- 2 Dla przebiegu, który ma zostać usunięty, wybrać **Delete** (Usuń). Usunięcie przebiegu spowoduje usunięcie lokalnego folderu przebiegu. Folder wyjściowy, który jest kopią folderu przebiegu, zostanie zachowany.
- 3 W oknie dialogowym wybrać opcję **Yes** (Tak), aby potwierdzić usunięcie przebiegu.
- 4 Powtórzyć czynności 2 i 3 dla każdego przebiegu, który ma zostać usunięty.
- 5 Po zakończeniu zamknąć obszar Process Management (Zarządzanie procesem) i wrócić do ekranu Sequence (Sekwencjonowanie).

## Aktualizacje oprogramowania

Oprogramowanie należy aktualizować w celu zapewnienia, że w systemie są dostępne najnowsze funkcje i poprawki. Aktualizacje oprogramowania są dostępne w pakietach oprogramowania systemowego zawierających następujące składniki:

- ▶ Oprogramowanie sterujące iSeq
- ▶ Protokoły systemu iSeq 100
- ▶ Aplikacja Universal Copy Service
- ▶ Oprogramowanie Real-Time Analysis
- ▶ Oprogramowanie Local Run Manager (wyłącznie struktura aplikacji)



### UWAGA

Choć oprogramowanie Local Run Manager jest uwzględnione w pakiecie oprogramowania systemowego, nie zawiera on modułów analizy. Należy zainstalować je osobno, korzystając z konta sbsadmin. Dostęp do oprogramowania modułów analizy można uzyskać na stronach pomocy technicznej oprogramowania Local Run Manager.

System jest konfigurowany do automatycznego lub ręcznego pobierania aktualizacji oprogramowania:

- ▶ **Automatic updates** (Aktualizacje automatyczne) — aktualizacje są automatycznie pobierane z platformy BaseSpace Sequence Hub, a następnie instalowane przez użytkownika. Opcja ta wymaga połączenia z Internetem, ale nie wymaga posiadania konta na platformie BaseSpace Sequence Hub.
- ▶ **Manual updates** (Aktualizacje ręczne) — aktualizacje są pobierane ręcznie z sieci, zapisywane lokalnie lub na urządzeniu przenośnym, a następnie instalowane z poziomu lokalizacji, w której zostały zapisane. Opcja ta nie wymaga połączenia z Internetem.

## Instalacja automatycznej aktualizacji oprogramowania

- 1 Przełączyć się na konto sbsadmin w systemie operacyjnym.
- 2 Wybrać menu oprogramowania sterującego, a następnie wybrać **Software Update** (Aktualizacja oprogramowania), aby otworzyć okno dialogowe Software Update (Aktualizacja oprogramowania).  
Gdy aktualizacja oprogramowania jest dostępna, w systemach, w których skonfigurowano aktualizacje automatyczne, wyświetlane jest powiadomienie.
- 3 Aby sprawdzić, czy dostępna jest aktualizacja, wybrać jedną z następujących opcji:
  - ▶ **Check for Update** (Sprawdź dostępność aktualizacji) — sprawdzenie dostępności aktualizacji.
  - ▶ **Autocheck for Updates** (Automatycznie sprawdzaj dostępność aktualizacji) — sprawdzenie dostępności aktualizacji i konfiguracja systemu w ten sposób, aby w przyszłości automatycznie sprawdzał dostępność aktualizacji.Opcje te są widoczne w systemach, które są podłączone do Internetu, ale w których nie skonfigurowano aktualizacji automatycznych.
- 4 Wybrać **Update** (Zaktualizuj), aby pobrać nową wersję oprogramowania.  
Gdy pobieranie się zakończy, oprogramowanie sterujące zostanie zamknięte i pojawi się kreator instalacji.
- 5 W kreatorze instalacji wybrać **Install** (Zainstaluj).



### UWAGA

Anulowanie aktualizacji przed zakończeniem instalacji powoduje zatrzymanie procesu aktualizacji w bieżącym momencie. Wszelkie zmiany wprowadzone do momentu anulowania procesu są przywracane do poprzedniej wersji lub nie są instalowane.

- 6 Po zakończeniu aktualizacji wybrać **Close** (Zamknij).
- 7 Po wyświetleniu edytora rejestru wybrać **Yes** (Tak).  
Oprogramowanie sterujące zostanie automatycznie uruchomione ponownie. Wszelkie aktualizacje oprogramowania sprzętowego przebiegają automatycznie po ponownym uruchomieniu.

## Ręczna instalacja aktualizacji oprogramowania

- 1 Przełączyć się na konto sbsadmin w systemie operacyjnym.
- 2 Gdy dostępna jest aktualizacja oprogramowania, pobrać instalator pakietu (\*.exe) ze **strony pomocy technicznej sekwenatora iSeq 100**. Zapisać instalator na dysku lokalnym lub przenośnym.
- 3 W przypadku zapisu na dysku przenośnym podłączyć ten dysk do portu USB z tyłu aparatu. W razie potrzeby przesunąć aparat w celu uzyskania dostępu do jego tylnej części.
- 4 Z menu oprogramowania sterującego wybrać **Software Update** (Aktualizacja oprogramowania).
- 5 W oknie dialogowym Software Update (Aktualizacja oprogramowania) rozwinąć **Install from local or portable drive** (Zainstaluj z lokalnego lub przenośnego dysku).
- 6 Wybrać **Browse** (Przejrząda) i wyszukać instalator.
- 7 Wybrać **Update** (Aktualizuj), aby rozpocząć instalację.  
Oprogramowanie sterujące zostanie zamknięte i pojawi się kreator instalacji.
- 8 W kreatorze instalacji wybrać **Install** (Zainstaluj).



#### UWAGA

Anulowanie aktualizacji przed zakończeniem instalacji powoduje zatrzymanie procesu aktualizacji w bieżącym momencie. Wszelkie zmiany wprowadzone do momentu anulowania procesu są przywracane do poprzedniej wersji lub nie są instalowane.

- 9 Po zakończeniu aktualizacji wybrać **Close** (Zamknij).
- 10 Po wyświetleniu edytora rejestru wybrać **Yes** (Tak).  
Oprogramowanie sterujące zostanie automatycznie uruchomione ponownie. Wszelkie aktualizacje oprogramowania sprzętowego przebiegają automatycznie po ponownym uruchomieniu.

## Wymiana filtra powietrza

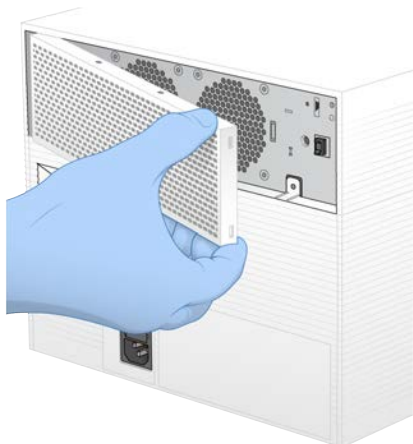
Filtr powietrza jest elementem jednorazowego użytku wykonanym z kawałka pianki, który osłania dwa wentylatory z tyłu aparatu. Zapewnia on poprawne chłodzenie i uniemożliwia wnikanie zanieczyszczeń do systemu. Aparat jest dostarczany z jednym zainstalowanym i jednym zapasowym filtrem powietrza. Dodatkowe części zamienne są dostępne w ramach gwarancji. Można je również zakupić od firmy Illumina.

Co sześć miesięcy od rozpoczęcia pierwszej konfiguracji w oprogramowaniu jest wyświetlany monit o wymianę filtra powietrza. Aby wymienić filtr powietrza po upływie terminu ważności, należy postępować zgodnie z poniższymi instrukcjami.

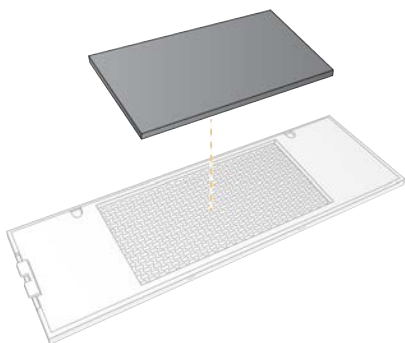
- 1 Ustawić aparat w taki sposób, aby zapewnić łatwy dostęp do panelu tylnego.
- 2 Z tyłu aparatu nacisnąć prawą stronę panelu górnego w sposób przedstawiony na poniższej ilustracji w celu zwolnienia panelu.



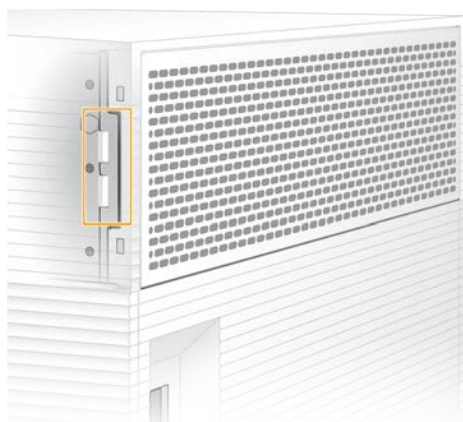
- Wyjąć panel z aparatu.



- Wyjąć piankowy filtr powietrza znajdujący się w środkowej części panelu i wyrzucić go.



- Umieścić nowy filtr powietrza w panelu, a następnie docisnąć go w celu zabezpieczenia.
- Umieścić dwa haczyki panelu w otworach w aparacie, a następnie docisnąć panel na miejsce.



- Ustawić aparat we wcześniejszym miejscu.
- Wybrać opcję **Filter Changed** (Filtr wymieniony), aby kontynuować.

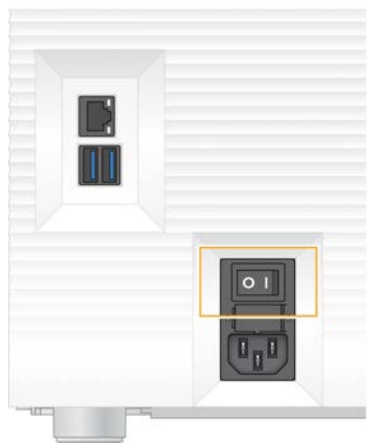
## Zmiana lokalizacji aparatu

W celu bezpiecznego przeniesienia aparatu w inne miejsce należy postępować zgodnie z poniższymi instrukcjami. Należy się upewnić, że nowa lokalizacja spełnia wymagania, które określa dokument *Przewodnik dotyczący przygotowania miejsca instalacji sekwenatora iSeq 100* (nr dokumentu: 1000000035337).

W przypadku zwrotu aparatu należy pominąć tę część i przejść do części *Zaawansowana wymiana na stronie 56*.

- 1 W menu wybrać **Shut Down System** (Wyłącz system).
- 2 Jeśli system się nie wyłączy, przytrzymać przycisk zasilania po lewej stronie aparatu do momentu, aż kontrolki zgasną.
- 3 Gdy przycisk zasilania zacznie migać, wcisnąć przełącznik zasilania na panelu tylnym po stronie oznaczenia (O).  
Przycisk zasilania może po wyłączeniu zasilania nadal migać.

**Rysunek 7** Lokalizacja przełącznika



- 4 Odłączyć przewód zasilający od gniazda ściennego, a następnie od gniazda zasilania prądem przemiennym na panelu tylnym.
- 5 Jeśli ma to zastosowanie w danej instalacji, odłączyć kabel Ethernet od gniazda ściennego, a następnie od gniazda Ethernet na panelu tylnym.
- 6 Obniżyć monitor.
- 7 Przenieść aparat do żądanej lokalizacji.  
Aparat ma masę 15,9 kg (35 funtów) i wymaga podnoszenia przez dwie osoby.
- 8 Unieść monitor.
- 9 Jeśli aparat jest podłączony do sieci, podłączyć kabel Ethernet do gniazda Ethernet.
- 10 Podłączyć przewód zasilający do gniazda zasilania prądem przemiennym na panelu tylnym, a następnie do gniazda ściennego.
- 11 Wcisnąć przełącznik zasilania po stronie oznaczenia (I).



12 Gdy przycisk zasilania zacznie migać, nacisnąć go.

**Rysunek 8** Lokalizacja przycisku zasilania



13 Po załadowaniu systemu operacyjnego zalogować się do systemu Windows.  
Oprogramowanie sterujące zostanie uruchomione i zainicjalizuje pracę systemu. Po zakończeniu inicjalizacji pojawi się ekran główny.

# Dodatek A Dane wyjściowe sekwencjonowania

Analiza w czasie rzeczywistym — omówienie .....	41
Procedura analizy w czasie rzeczywistym .....	44

## Analiza w czasie rzeczywistym — omówienie

Oprogramowanie Real-Time Analysis działa na komputerze sterującym aparatu. Podczas przebiegu sekwencjonowania oprogramowanie to wyodrębnia intensywność z obrazów w celu rozpoznawania nukleotydów, a następnie przypisuje wynik jakościowy do każdego rozpoznania nukleotydu.

W sekwenatorze iSeq 100 stosowana jest implementacja RTA2 oprogramowania Real-Time Analysis. Aplikacja RTA2 i oprogramowanie sterujące komunikują się za pośrednictwem interfejsu sieciowego HTTP i udostępnionych w pamięci plików. W przypadku przerwania działania aplikacji RTA2 przetwarzanie nie jest wznowiane, a dane przebiegu nie zostają zapisane.



### UWAGA

Wydajność demultipleksacji nie jest obliczana, w związku z czym pola danych na karcie Index (Indeks) przeglądarki Sequencing Analysis Viewer nie są wypełniane.

## Pliki wejściowe

Aplikacja RTA2 wymaga następujących plików wejściowych do przetwarzania:

- ▶ Obrazy płytek zawarte w pamięci lokalnej systemu.
- ▶ Plik konfiguracyjny aplikacji **Real-Time Analysis** w formacie XML.
- ▶ Plik **RunInfo.xml**, który jest tworzony automatycznie przez oprogramowanie sterujące na początku przebiegu.

Aplikacja RTA2 otrzymuje polecenia z oprogramowania sterującego zawierające informacje dotyczące lokalizacji pliku **RunInfo.xml** oraz ewentualnie wybranego folderu wyjściowego. Z pliku **RunInfo.xml** aplikacja RTA2 odczytuje nazwę przebiegu, liczbę cykli, informację o ewentualnym indeksowaniu odczytu oraz liczbę płytek w komorze przepływowej.

## Pliki wyników

Obrazy są przesyłane w pamięci do aplikacji RTA2 jako płytki, które stanowią niewielkie obszary obrazowania w komorze przepływowej zdefiniowane przez jeden widok z kamery. Komora przepływowa iSeq 100 i1 obejmuje 16 płytek.

Na podstawie tych obrazów aplikacja RTA2 generuje zestaw plików rozpoznań nukleotydów z oceną jakościową oraz plików filtrów jako wstępny wynik. Inne pliki obsługują tworzenie wyników wstępnych.

Typ pliku	Opis, lokalizacja i nazwa pliku
Pliki rozpoznania nukleotydów	W pliku rozpoznania nukleotydów uwzględniana jest każda przeanalizowana płytka, przy czym płytki są grupowane do jednego pliku na cykl. Plik ze zbiorem zawiera rozpoznanie nukleotydu oraz powiązaną ocenę jakościową dla każdego klastra. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [Cykl].bcl.bgzf, gdzie [Cykl] oznacza numer cyklu podawany w postaci czterech cyfr. Pliki rozpoznania nukleotydów są kompresowane przy użyciu kompresji gzip.
Pliki indeksów rozpoznania nukleotydów	Plik indeksu rozpoznania nukleotydu zachowuje pierwotne dane płytki. W przypadku każdej płytki plik indeksu zawiera numer płytki i liczbę klastrów. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [Cykl].bcl.bgzf.bci
Plik lokalizacji klastrów	Jeden plik lokalizacji klastrów (s.locs) zawiera współrzędne X, Y wszystkich klastrów komory przepływowej. Data\Intensities s.locs
Pliki filtrów	Pliki filtrów określają, czy klastry przechodzą przez filtr. Dla każdej płytki tworzony jest jeden plik filtra. Pliki filtrów są tworzone podczas cyklu 26 z użyciem 25 cykli danych. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[pasm].filter
Pliki InterOp	Dane w czasie rzeczywistym dotyczące jakości przebiegu, aktualizowane w ciągu całego przebiegu. Te pliki binarne zawierają dane płytek, cyklu oraz poziomu odczytu i są wymagane do wyświetlania danych w przeglądarce Sequencing Analysis Viewer. Folder InterOp
Plik konfiguracyjny RTA	Zawiera listę parametrów przebiegu. Ten plik jest tworzony na początku przebiegu i łączy w sobie wartości z wejściowego pliku konfiguracyjnego i wartości definiowane przez aplikację RTA2. [Folder główny], RTAConfiguration.xml
Plik z danymi przebiegu*	Zawiera nazwę przebiegu, liczbę cykli na odczyt, informację, czy odczyt jest odczytem indeksów, a także liczbę zbiorów i płytek. Tworzony na początku przebiegu. [Folder główny], RunInfo.xml
Pliki miniatur	Obrazy miniatur przedstawiających płytki komory przepływowej. Images\L001\C[X.1] – pliki są zapisywane w jednym folderze dla każdego pasma i w jednym podfolderze dla każdego cyklu. s_[pasm]_[płytk].jpg – obraz miniatury zawiera numer płytki.

\* Tworzony przez oprogramowanie sterujące. Aplikacja RTA2 tworzy wszystkie pozostałe pliki wymienione w tabeli.

Oprogramowanie Local Run Manager i platforma BaseSpace Sequence Hub automatycznie konwertują pliki rozpoznania nukleotydów na pliki FASTQ. W przypadku sekwencjonowania w trybie ręcznym należy używać najnowszej wersji oprogramowania do konwersji bcl2fastq2 w celu konwertowania plików FASTQ.

Oprogramowanie należy pobrać ze [stron pomocy technicznej oprogramowania do konwersji bcl2fastq](#) w witrynie internetowej firmy Illumina.

## Nazwa i ścieżka folderu wyjściowego

Oprogramowanie sterujące automatycznie tworzy folder wyjściowy i folder przebiegu dla każdego przebiegu. Dostęp do danych przebiegu można uzyskać z folderu wyjściowego, który jest kopią folderu przebiegu. Folder przebiegu jest przeznaczony do użytku przez system.

Ścieżka folderu wyjściowego jest definiowana przez użytkownika, ale domyślnie jest to D:\. Oprogramowanie sterujące nadaje nazwę folderowi wyjściowemu, korzystając z przedstawionego poniżej formatu.

Format	Przykład
<RRRRMMDD>_<ID aparatu>_<Numer przebiegu>_<ID komory przepływowej>	20180331_FFSP247_4_BNS417-05-25-12

Numer przebiegu zwiększa się o jeden za każdym razem, gdy system realizuje przebieg. Numery seryjne identyfikują aparat i komorę przepływową.

## Struktura folderu wyjściowego

- 📁 **Recipe** (Protokół) – plik protokołu danego przebiegu.
- 📁 **Logs** (Dzienniki) – pliki dziennika opisujące analitykę aparatu, czynności obsługowe i inne zdarzenia.
- 📁 **Config** (Konfiguracja) – ustawienia konfiguracji przebiegu.
- 📄 RunParameters.xml
- 📄 RunInfo.xml
- 📄 CopyComplete.txt
- 📄 RunCompletionStatus.txt
- 📄 RTAComplete.txt
- 📄 RTAConfiguration.xml
- 📁 **Data** (Dane)
  - 📁 **Intensities** (Intensywności)
    - 📁 **BaseCalls** (Rozpoznanie nukleotydów)
      - 📁 **L001**
    - 📄 s.locs
- 📁 **InterOp**
- 📁 **Images** (Obrazy)
- 📄 SampleSheet.csv – arkusz próbek lub wykaz próbek.
- 📁 **RTALogs** (Dzienniki RTA) – pliki dziennika zawierające opisy zdarzeń dotyczących aplikacji RTA2.

## Usuwanie błędów

Aplikacja RTA2 tworzy pliki dziennika i zapisuje je w folderze RTALogs. Błędy są zapisywane w pliku błędów w formacie TSV.

Następujące pliki dziennika i błędów są przesyłane do końcowej lokalizacji docelowej wyników pod koniec przetwarzania:

- ▶ \*GlobalLog\*.tsv – zawiera podsumowanie ważnych zdarzeń dotyczących przebiegów.
- ▶ \*Error\*.tsv – zawiera listę błędów, które wystąpiły w czasie przebiegu.
- ▶ \*WarningLog\*.tsv – zawiera listę ostrzeżeń, które pojawiły się podczas przebiegu.

## Procedura analizy w czasie rzeczywistym

<b>Określanie intensywności</b>	Określenie wartości intensywności w przypadku każdego klastra.
↓	
<b>Korekta fazowania</b>	Korekta efektów fazowania i fazowania wyprzedzającego.
↓	
<b>Rozpoznawanie nukleotydów</b>	Określenie rozpoznania nukleotydu w przypadku każdego klastra.
↓	
<b>Ocena jakościowa</b>	Przypisanie wyniku jakościowego do każdego rozpoznania nukleotydu.

### Określanie intensywności

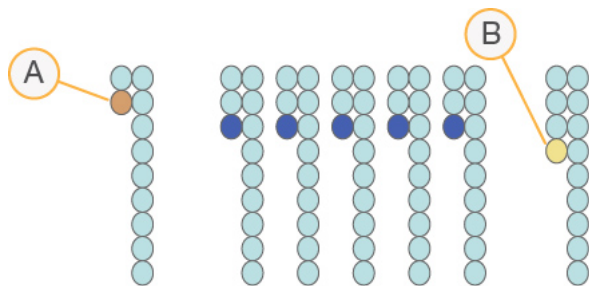
Podczas określania intensywności obliczana jest wartość intensywności dla każdego nanodołka na danym obrazie.

### Korekta fazowania

Podczas reakcji sekwencjonowania każda nić DNA w klastrze wydłuża się o jeden nukleotyd na cykl. Fazowanie i fazowanie wyprzedzające występują, gdy nić znajdzie się poza fazą, w której przebiega bieżący cykl dołączania.

- ▶ Fazowanie występuje, gdy dochodzi do opóźnienia o jedną zasadę.
- ▶ Fazowanie wyprzedzające występuje, gdy dochodzi do wyprzedzenia o jedną zasadę.

**Rysunek 9** Fazowanie i fazowanie wyprzedzające



- A Odczyt z nukleotydem na etapie fazowania
- B Odczyt z nukleotydem na etapie fazowania wyprzedzającego

Aplikacja RTA2 koryguje efekty fazowania i fazowania wyprzedzającego, co pozwala zmaksymalizować jakość danych w każdym cyklu podczas przebiegu.

### Rozpoznawanie nukleotydów

Rozpoznawanie nukleotydów określa zasadę (A, C, G lub T) dla każdego klastra danej płytki w określonym cyklu. Sekwenator iSeq 100 wykorzystuje sekwencjonowanie jednobarwnikowe, które wymaga jednego barwnika i dwóch obrazów do kodowania danych dla czterech zasad.

Poziomy intensywności wyekstrahowane z jednego obrazu i porównane z drugim obrazem dają cztery odrębne populacje, z których każda odpowiada jednemu nukleotydowi. Rozpoznawanie nukleotydów określa, do której populacji należy każdy klastr.

Rysunek 10 Wizualizacja poziomów intensywności klastrów

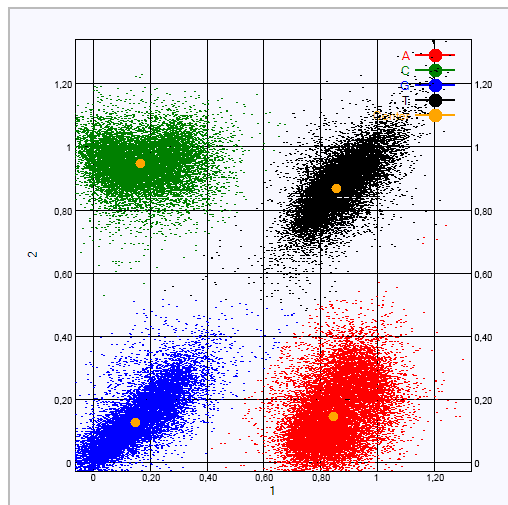


Tabela 1 Rozpoznawanie nukleotydów w sekwencjonowaniu jednobarwnikowym

Zasada	Barwnik na pierwszym obrazie	Barwnik na drugim obrazie	Wniosek z porównania obrazów
T	Wł.	Wł.	Klastry, które są intensywne na obu obrazach, to zasady T.
A	Wł.	Wył.	Klastry, które są intensywne tylko na pierwszym obrazie, to zasady A.
C	Wył.	Wł.	Klastry, które są intensywne tylko na drugim obrazie, to zasady C.
G	Wył.	Wył.	Klastry, które nie są intensywne na żadnym z obrazów, to zasady G.

## Klastry przechodzące przez filtr

Podczas przebiegu aplikacja RTA2 umożliwia odfiltrowanie nieprzetworzonych danych w celu usunięcia odczytów, które nie spełniają progu jakości danych. Klastry nakładające się i niskiej jakości są usuwane.

W przypadku sekwencjonowania jednobarwnikowego aplikacja RTA2 wykorzystuje system oparty o populację, aby określić czystość (pomiar czystości intensywności) rozpoznania nukleotydu. Klastry przechodzą przez filtr (PF), gdy nie więcej niż jeden rozpoznany nukleotyd w pierwszych 25 cyklach ma czystość poniżej ustalonego progu.

Dopasowanie kontroli PhiX przeprowadza się w cyklu 26 na podzestawie płytek dla klastrów, które przeszły przez filtr. Klastry, które nie przechodzą przez filtr, nie są poddawane rozpoznawaniu nukleotydów ani dopasowywane.

## Odczyty indeksów

Proces odczytu indeksów rozpoznawania nukleotydów różni się od odczytu sekwencjonowania rozpoznawania nukleotydów. Pierwsze dwa cykle odczytu indeksu nie mogą zaczynać się od dwóch zasad G, w przeciwnym wypadku nie dojdzie do wygenerowania intensywności. W celu zapewnienia wydajności demultipleksacji intensywność musi być obecna w obu pierwszych cyklach.

Należy upewnić się, że **co najmniej** jedna sekwencja adaptera indeksu w puli biblioteki nie zaczyna się od dwóch zasad G. Należy wybrać zrównoważone sekwencje adaptera indeksów, tak aby sygnał był obecny na co najmniej jednym obrazie (najlepiej na obu obrazach) dla każdego cyklu. Układ płytki i sekwencje dostępne w indeksach IDT for Illumina TruSeq UD Indexes mają na celu zapewnienie właściwej równowagi.

Więcej informacji dotyczących indeksowania i tworzenia puli zawiera dokument *Index Adapter Pooling Guide* (Przewodnik dotyczący tworzenia puli adapterów indeksów (nr dokumentu: 1000000041074)).

## Ocena jakościowa

Wynik jakościowy (Q-score) określa prawdopodobieństwo rozpoznania niewłaściwego nukleotydu. Wyższy wynik jakościowy wskazuje, że rozpoznanie nukleotydu mają wyższą jakość i większe prawdopodobieństwo poprawności.

Pomiar Q-score stanowi prosty sposób identyfikacji prawdopodobieństwa wystąpienia niewielkich błędów. Q (X) oznacza wyniki jakościowe, a X to wynik. W poniższej tabeli przedstawiono relację między wynikiem jakościowym i prawdopodobieństwem błędu.

Q-Score Q(X)	Prawdopodobieństwo błędu
Q40	0,0001 (1 na 10 000)
Q30	0,001 (1 na 1000)
Q20	0,01 (1 na 100)
Q10	0,1 (1 na 10)



### UWAGA

Wynik jakościowy jest obliczany na podstawie zmodyfikowanej wersji algorytmu Phred.

W ramach oceny jakościowej dla każdego rozpoznania nukleotydu obliczany jest zbiór wartości prognostycznych, które następnie są używane w celu wyszukania wyniku jakościowego w tabeli jakości. Tabele jakości zostały utworzone w celu zapewnienia optymalnej dokładności prognostycznej oceny jakościowej przebiegów wygenerowanych w określonej konfiguracji platformy do sekwencjonowania oraz metody oznaczania.

Po określeniu wyników jakościowych są one zapisywane w plikach rozpoznań nukleotydów.

# Dodatek B Rozwiązywanie problemów

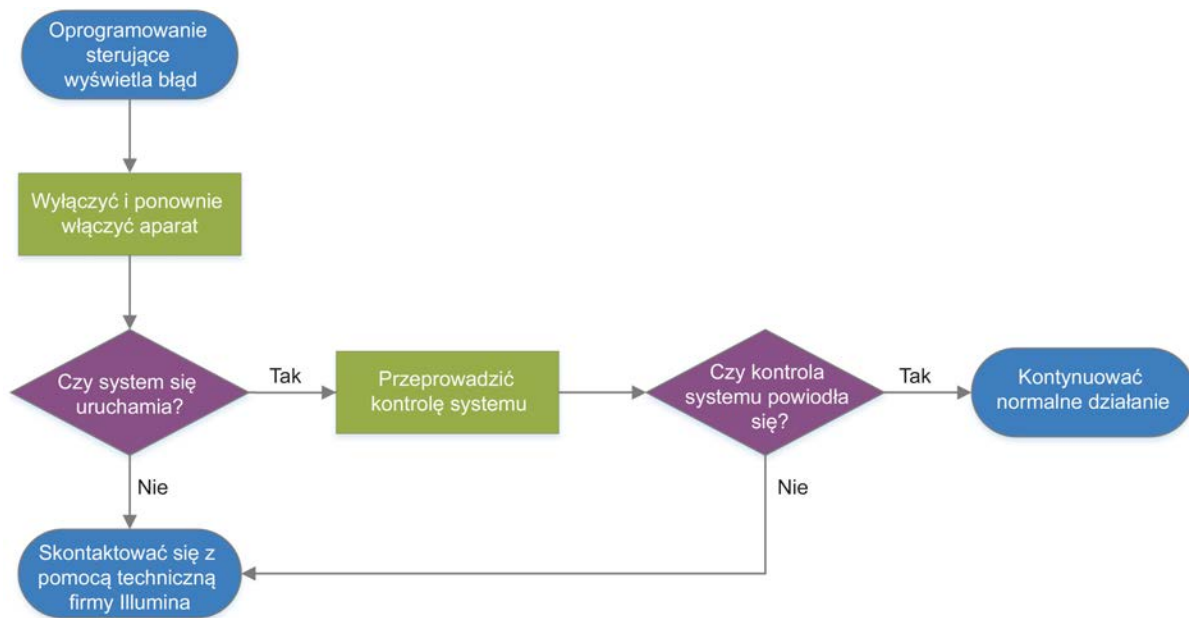
Usuwanie komunikatów o błędach .....	47
Anulowanie rozpoczętego przebiegu .....	48
Wyłączenie i ponowne włączenie aparatu .....	48
Przeprowadzanie kontroli systemu .....	49
Ograniczanie wycieku .....	51
Przywracanie ustawień fabrycznych .....	54

## Usuwanie komunikatów o błędach

Niniejszy dodatek zawiera szczegółowe instrukcje dotyczące wykonywania różnych procedur rozwiązywania problemów. Poniższy schemat przedstawia procedurę eliminowania komunikatów o błędach, które mogą pojawić się podczas inicjalizacji, konfiguracji przebiegu, wstępnych testów kontrolnych lub sekwencjonowania, a których nie można usunąć przez ponowną próbę wykonania konkretnej czynności.

Wiele błędów można rozwiązać przez wyłączenie i ponowne włączenie aparatu. Inne błędy wymagają przeprowadzenia kontroli systemu w celu zidentyfikowania i rozwiązania problemu.

Rysunek 11 Schemat postępowania przy komunikatach o błędach



## Status zarządzania procesem

Aby rozwiązać problem związany ze statusem na ekranie Process Management (Zarządzanie procesem):

- ▶ Jeśli przebieg jest w toku, zamknąć ekran Process Management (Zarządzanie procesem), odczekać około pięć minut, a następnie ponownie otworzyć ekran.
- ▶ Jeśli przebieg nie jest w toku, wyłączyć i ponownie włączyć aparat, a następnie ponownie otworzyć ekran Process Management (Zarządzanie procesem). Zobacz część *Wyłączenie i ponowne włączenie aparatu* na stronie 48.



## Anulowanie rozpoczętego przebiegu

Rozpoczęty przebieg można anulować, aby go zakończyć, wysunąć kasetę i wrócić do ekranu Sequence (Sekwencjonowanie).



### PRZESTROGA

Anulowanie jest **ostateczne**. Oprogramowanie nie może wznowić przebiegu, a po przeprowadzeniu kontroli aparatu w ramach wstępnych testów kontrolnych nie można ponownie użyć materiałów eksploatacyjnych.

- Wybrać **Stop Run** (Zatrzymaj przebieg), a następnie wybrać **Yes, Cancel** (Tak, anuluj).  
Zostanie wyświetlony ekran Sequencing Canceled (Sekwencjonowanie zatrzymane) ze znacznikami czasu określającymi datę i godzinę zatrzymania przebiegu.
- Wybrać **Eject Cartridge** (Wysuń kasetę), aby otworzyć drzwiczki i wysunąć kasetę.
- Wyjąć kasetę z tacy.
- Przechować lub zutylizować kasetę, w zależności od tego, kiedy nastąpiło anulowanie:

Sytuacja	Instrukcja
Anulowanie wykonano przed kontrolą aparatu albo w jej trakcie i wymagane jest ponowne użycie materiałów eksploatacyjnych.	Pozostawić komorę przepływową i bibliotekę w kasecie, a następnie odstawić na bok w temperaturze pokojowej na maksymalnie 1 godzinę.
We wszystkich pozostałych sytuacjach.	Wyjąć komorę przepływową z kasety. Zutylizować oba te elementy zgodnie z właściwymi normami regionalnymi. <ul style="list-style-type: none"> <li>Komora przepływowa zawiera elementy elektroniczne.</li> <li>Odczynniki i biblioteka zawarte w kasecie zostały zużyte.</li> </ul>

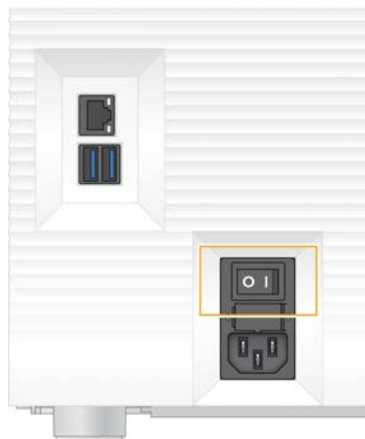
- Wybrać **Close Door** (Zamknij drzwiczki), aby ponownie załadować tacę i powrócić do ekranu Sequencing (Sekwencjonowanie).  
Czujniki potwierdzą wyjęcie kasety.

## Wyłączenie i ponowne włączenie aparatu

Wyłączenie i ponowne włączenie zasilania aparatu pozwala w bezpieczny sposób wyłączyć i ponownie uruchomić system w celu przywrócenia utraconego połączenia, dopasować specyfikację lub rozwiązać problem związany z niepowodzeniem inicjalizacji. Komunikaty wyświetlane w oprogramowaniu wskazują, kiedy należy wyłączyć i ponownie włączyć zasilanie w celu usunięcia błędu lub ostrzeżenia.

- W menu wybrać **Shut Down System** (Wyłącz system).
- Jeśli system się nie wyłączy, przytrzymać przycisk zasilania po lewej stronie aparatu do momentu, aż kontrolki zgasną.
- Gdy przycisk zasilania zacznie migać, wcisnąć przełącznik zasilania na panelu tylnym po stronie oznaczenia (O).  
Przycisk zasilania może po wyłączeniu zasilania nadal migać.

**Rysunek 12** Lokalizacja przełącznika



- 4 Odczekać 30 sekund.
- 5 Wcisnąć przełącznik zasilania po stronie oznaczenia (I).
- 6 Gdy przycisk zasilania zacznie migać, nacisnąć go.

**Rysunek 13** Lokalizacja przycisku zasilania



- 7 Po załadowaniu systemu operacyjnego zalogować się do systemu Windows. Oprogramowanie sterujące zostanie uruchomione i zainicjalizuje pracę systemu. Po zakończeniu inicjalizacji pojawi się ekran główny.

## Przeprowadzanie kontroli systemu

Kontrola systemu trwa około 45 minut i wykorzystuje testową komorę przepływową wielokrotnego użytku oraz testową kasetę wielokrotnego użytku do usunięcia błędów kontroli przed przebiegiem i rozwiązania innych problemów. Testy czterech podsystemów mają na celu potwierdzenie, że elementy są prawidłowo wyrównane i działają właściwie.

Zwykłe działanie i konserwacja nie wymagają kontroli systemu.

- 1 Wyjąć testową komorę przepływową wielokrotnego użytku oraz testową kasetę wielokrotnego użytku z miejsca przechowywania w temperaturze pokojowej.
- 2 W menu oprogramowania sterującego wybrać opcję **System Check** (Kontrola systemu). Zostanie wyświetlone okno dialogowe System Check (Kontrola systemu) z zaznaczonymi testami mechanicznymi, termicznymi, optycznymi i testami czujników.
- 3 Wybrać opcję **Unload** (Wyładuj), aby otworzyć przedział kasety i wysunąć tacę.
- 4 Wyjąć kasetę z tacy, jeśli się tam znajduje.
- 5 Sprawdzić, czy na szklanej powierzchni komory przepływowej wielokrotnego użytku nie ma widocznych zanieczyszczeń. W przypadku stwierdzenia zanieczyszczeń wyczyścić powierzchnię w poniżej opisany sposób.
  - a Oczyszczyć szklaną powierzchnię chusteczką nasączoną alkoholem.
  - b Osuszyć niestrzępiącą się chusteczką laboratoryjną.
  - c Upewnić się, że w komorze przepływowej nie pozostały strzępki materiału ani włókna.

W normalnych warunkach komora przepływowa wielokrotnego użytku nie wymaga czyszczenia.

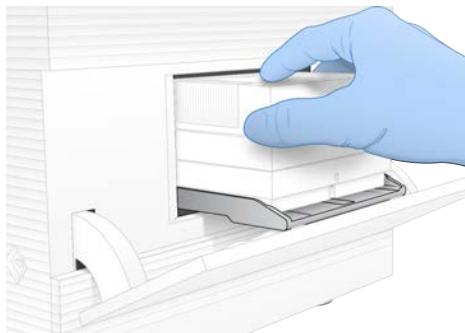
- 6 Przytrzymać komorę przepływową wielokrotnego użytku za punkty uchwytu, z etykietą skierowaną ku górze.
- 7 Wsunąć testową komorę przepływową wielokrotnego użytku do gniazda z przedniej strony kasety testowej wielokrotnego użytku.

Słyszalne kliknięcie wskazuje, że komora przepływowa jest na swoim miejscu. Po prawidłowym załadowaniu uchwyt będzie wystawał z kasety, a szkło będzie widoczne w oknie dostępu.



- a Ładowanie testowej komory przepływowej wielokrotnego użytku
- b Załadowana testowa komora przepływowa wielokrotnego użytku

- 8 Umieścić kasetę na tacy, tak aby okno dostępu było skierowane ku górze, a komora przepływowa znajdowała się wewnątrz aparatu.



- 9 Wybrać opcję **Load** (Załaduj), aby załadować testową kasetę wielokrotnego użytku i zamknąć drzwiczki.
- 10 Wybrać opcję **Start** (Rozpocznij), aby rozpocząć kontrolę systemu. Podczas kontroli systemu oprogramowanie jednokrotnie wysuwa i wsuwa kasetę oraz wyświetla pozostałą liczbę użyc. Obydwa elementy testowe wielokrotnego użytku można użyć maksymalnie 130 razy.
- 11 Sprawdzić po zakończeniu kontroli systemu, czy poszczególne testy zakończyły się powodzeniem czy niepowodzeniem.

Wynik	Znaczenie	Działanie
Wszystkie testy zakończyły się powodzeniem.	Aparat działa prawidłowo, a problem jest prawdopodobnie związany z materiałami eksploatacyjnymi lub biblioteką.	Skonfigurować nowy przebieg. Jeśli zachowano materiały eksploatacyjne z poprzedniego przebiegu, należy wykorzystać je w nowym przebiegu.
Co najmniej jeden test zakończył się niepowodzeniem.	W aparacie mógł wystąpić problem związany ze sprzętem.	Skontaktować się z pomocą techniczną firmy Illumina.

- 12 Wybrać **Unload** (Wyładuj), aby wysunąć testową kasetę wielokrotnego użytku.
- 13 Wyjąć testową kasetę wielokrotnego użytku z tacy.
- 14 Wyjąć testową komorę przepływową wielokrotnego użytku z kasety.
- 15 Umieścić elementy testowe wielokrotnego użytku z powrotem w oryginalnych opakowaniach i przechowywać w temperaturze pokojowej.
- 16 Zamknąć okno dialogowe System Check (Kontrola systemu).

## Ograniczanie wycieku

W przypadku wykrycia słabego połączenia układu przepływowego, problemu z kasetą czy wycieku podczas wstępnego testu kontrolnego lub sekwencjonowania oprogramowanie zakończy przebieg i wyświetlone zostanie powiadomienie. Po ocenie wycieku i wyczyszczeniu aparatu system potwierdzi, czy można kontynuować zwykłe działanie.

Tacka ociekowa u podstawy aparatu służy do zbierania płynów wyciekających z kasety. Wycieki płynów mogą jednak dotrzeć do innych części systemu. W normalnych warunkach tacka ociekowa jest sucha.

## Ocena wycieku

- 1 Założyć nowe rękawiczki bez talku.



### OSTRZEŻENIE

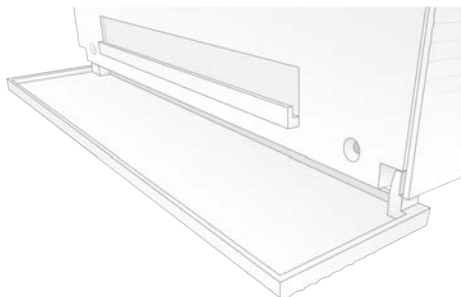
Ten zestaw odczynników zawiera potencjalnie niebezpieczne substancje chemiczne. Wdychanie, połknięcie, kontakt ze skórą i oczami mogą powodować uszczerbek na zdrowiu. Należy nosić wyposażenie ochronne, w tym ochronę oczu, rękawiczki oraz fartuch laboratoryjny odpowiednie do ryzyka narażenia. Zużyte odczynniki należy traktować jako odpady chemiczne i utylizować je zgodnie z odpowiednimi przepisami regionalnymi, krajowymi i lokalnymi. Dodatkowe informacje dotyczące ochrony środowiska, zdrowia i bezpieczeństwa zawiera karta charakterystyki dostępna na stronie [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

- 2 Aby wysunąć kasetę, należy postępować zgodnie z poleceniami wyświetlanymi na ekranie.
- 3 Sprawdzić, czy na kasecie nie ma widocznego płynu.  
Mała ilość płynu (< 500 µl) na szklanej powierzchni komory przepływowej jest dopuszczalna.
- 4 Jeśli nie widać płynu (lub widać dopuszczalną ilość płynu), przejść do części *Czyszczenie aparatu*.  
Po czyszczeniu kontrola systemu potwierdza zwykle działanie.
- 5 Jeśli na komorze przepływowej, kasecie lub aparacie widać znaczną ilość płynu, wyłączyć i odłączyć system w podany poniżej sposób oraz skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Illumina.
  - a W menu wybrać **Shut Down System** (Wyłącz system).
  - b Jeśli aparat nie zareaguje na polecenie wyłączenia, nacisnąć i przytrzymać przycisk zasilania po lewej stronie aparatu do momentu, aż kontrolki zgasną.
  - c Gdy przycisk zasilania zacznie migać, wcisnąć przełącznik zasilania z tyłu aparatu po stronie oznaczenia (O).
  - d Odczekać 30 sekund.
  - e Odłączyć przewód zasilający od gniazda ściennego, a następnie od gniazda zasilania prądem przemiennym na panelu tylnym.
  - f Jeśli ma to zastosowanie w danej instalacji, odłączyć kabel Ethernet od gniazda ściennego, a następnie od gniazda Ethernet na panelu tylnym.

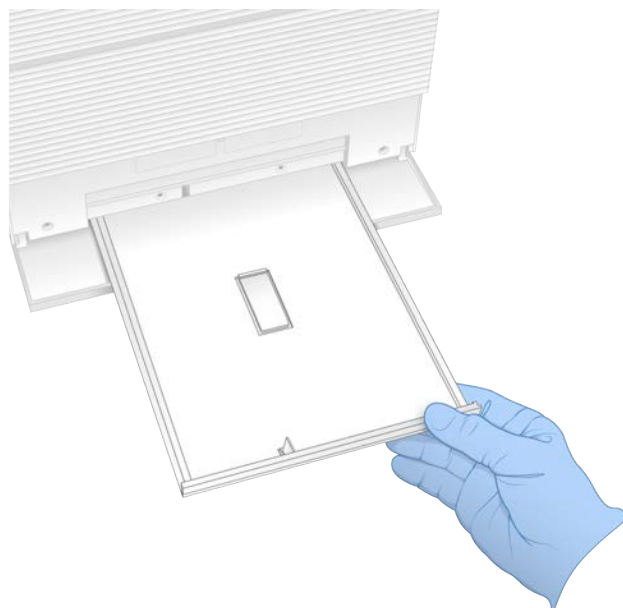
## Czyszczenie aparatu

- 1 Dla bezpieczeństwa wyłączyć i odłączyć aparat:
  - a W menu wybrać **Shut Down System** (Wyłącz system).
  - b Jeśli aparat nie zareaguje na polecenie wyłączenia, nacisnąć i przytrzymać przycisk zasilania po lewej stronie aparatu do momentu, aż kontrolki zgasną.
  - c Gdy przycisk zasilania zacznie migać, wcisnąć przełącznik zasilania z tyłu aparatu po stronie oznaczenia (O).
  - d Odczekać 30 sekund.
  - e Odłączyć przewód zasilający od gniazda ściennego, a następnie od gniazda zasilania prądem przemiennym na panelu tylnym.
  - f Jeśli ma to zastosowanie w danej instalacji, odłączyć kabel Ethernet od gniazda ściennego, a następnie od gniazda Ethernet na panelu tylnym.

- 2 Odszukać drzwiczki tacki ociekowej poniżej przedziału kasety z przodu aparatu, a następnie obniżyć drzwiczki.



- 3 Otworzyć tackę ociekową i wyjąć podkładkę do tacki ociekowej.



- 4 Za pomocą ręczników papierowych zetrzeć z dna tacki wszelkie pozostałości płynu.
- 5 Zutilizować podkładkę i pozostałe materiały eksploatacyjne zgodnie z normami obowiązującymi w danym kraju.  
Więcej informacji zawiera karta charakterystyki (ang. Safety Data Sheet, SDS) dostępna na stronie [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).
- 6 Umieścić nową podkładkę na tacce ociekowej.
- 7 Zamknąć tackę ociekową, a następnie zamknąć jej drzwiczki.
- 8 Za pomocą ręczników papierowych wytrzeć wszelki płyn widoczny na aparacie lub wokół niego.
- 9 Włączyć i ponownie podłączyć aparat w następujący sposób:
  - a Jeśli ma to zastosowanie, podłączyć kabel Ethernet do gniazda Ethernet.
  - b Podłączyć przewód zasilający do gniazda zasilania prądem przemiennym na panelu tylnym, a następnie do gniazda ściennego.
  - c Wcisnąć przełącznik zasilania na panelu tylnym po stronie oznaczenia (I).
  - d Gdy przycisk zasilania zacznie migać, nacisnąć go.

- e Po załadowaniu systemu operacyjnego zalogować się do systemu Windows.

Oprogramowanie sterujące zostanie uruchomione i zainicjalizuje pracę systemu. Po zakończeniu inicjalizacji pojawi się ekran główny.

- 10 Przeprowadzić kontrolę systemu, aby potwierdzić, czy system działa prawidłowo. Zakończenie kontroli systemu powodzeniem oznacza, że aparat może wznowić zwykłe działanie. Instrukcje znajdują się w części *Przeprowadzanie kontroli systemu na stronie 49*.

## Przywracanie ustawień fabrycznych

Przywracanie fabrycznych ustawień domyślnych systemu przeprowadza się w celu zmiany wersji oprogramowania na niższą, cofnięcia niepożądanego konfiguracji lub usunięcia danych użytkownika przed zwrotem aparatu do firmy Illumina. Przywrócenie ustawień domyślnych systemu powoduje odinstalowanie oprogramowania sterującego i wyczyszczenie dysku C.

- 1 Jeśli repozytorium genomów referencyjnych oprogramowania Local Run Manager znajduje się na dysku C:
  - a Przenieść repozytorium do katalogu D:\Illumina\Genomes albo innego folderu lokalnego lub sieciowego, który nie znajduje się na dysku C.
  - b W oprogramowaniu Local Run Manager ustawić ścieżkę repozytorium na D:\Illumina\Genomes albo ścieżkę do innego folderu lokalnego lub sieciowego, który nie znajduje się na dysku C. Instrukcje zawiera dokument *Local Run Manager Software Guide (Instrukcja obsługi oprogramowania Local Run Manager) (dokument nr 1000000002702)*.
- 2 Uruchomić ponownie system Windows.
- 3 Po wyświetleniu monitu o wybór systemu operacyjnego wybrać opcję **Restore to Factory Settings** (Przywróć ustawienia fabryczne).

Na ekranie na krótko pojawią się opcje systemów operacyjnych, po czym procedura będzie automatycznie kontynuowana z wykorzystaniem oprogramowania sterującego iSeq.
- 4 Poczekać około 30 minut na zakończenie procesu przywracania.

Proces przywracania może obejmować kilka cykli ponownego uruchamiania. Po zakończeniu procesu system zostanie uruchomiony ponownie z oryginalnymi ustawieniami fabrycznymi bez oprogramowania sterującego.
- 5 Zainstalować oprogramowanie sterujące:
  - a Pobrać instalator oprogramowania ze stron pomocy technicznej sekwenatora iSeq 100. Zapisać instalator w lokalizacji sieciowej lub na przenośnej pamięci USB.
  - b Skopiować instalator do folderu C:\Illumina.
  - c Otworzyć plik **iSeqSuiteInstaller.exe**, a następnie postępować zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi na ekranie w celu przeprowadzenia instalacji.
  - d Po zakończeniu aktualizacji wybrać opcję **Finish** (Zakończ).
  - e Wyłączyć i ponownie włączyć aparat. Instrukcje zawiera część *Wyłączenie i ponowne włączenie aparatu na stronie 48*.
- 6 Postępować zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi na ekranie w celu przeprowadzenia pierwszej konfiguracji, w tym kontroli systemu z wykorzystaniem testowej kasety wielokrotnego użytku oraz testowej komory przepływowej wielokrotnego użytku.

- 7 Zainstalować dowolne moduły analizy oprogramowania Local Run Manager:
  - a Przełączyć się na konto sbsadmin w systemie operacyjnym.
  - b Pobrać instalatory oprogramowania ze stron pomocy technicznej oprogramowania Local Run Manager. Zapisać instalatory w lokalizacji sieciowej lub na przenośnej pamięci USB.
  - c Skopiować instalator do folderu C:\Illumina.
  - d Otworzyć plik instalatora (\*.exe), a następnie postępować zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi na ekranie w celu przeprowadzenia instalacji.
  - e Po zakończeniu aktualizacji wybrać opcję **Finish** (Zakończ).



# Dodatek C Zaawansowana wymiana

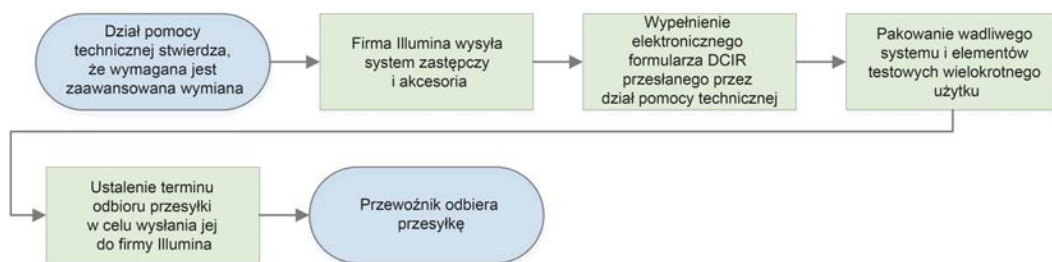
Wstęp .....	56
Otrzymanie systemu zastępczego .....	56
Przygotowanie oryginalnego systemu do zwrotu .....	57
Zwrot oryginalnego systemu .....	60

## Wstęp

Filtr powietrza i tacka ociekowa są jedynymi częściami systemu iSeq 100, które podlegają serwisowaniu, w związku z czym firma Illumina stosuje procedurę zaawansowanej wymiany w przypadku problemów, których nie można rozwiązać zdalnie.

Zaawansowana wymiana polega na zastąpieniu systemu uszkodzonego lub wadliwego systemem odnowionym. W celu zminimalizowania przestoju klient otrzymuje system zastępczy, zanim odeśle system oryginalny.

Rysunek 14 Zaawansowana wymiana — omówienie



## Dostępność regionalna

Opcja zaawansowanej wymiany jest dostępna w większości krajów. Użytkownicy w pozostałych regionach mogą liczyć na pomoc terenowych pracowników serwisu. Informację na temat dostępności modeli obsługi technicznej w danym regionie można uzyskać, kontaktując się z działem pomocy technicznej firmy Illumina.

## Otrzymanie systemu zastępczego

- 1 Jeśli kontrola systemu oraz wszelkie inne działania mające na celu rozwiązanie problemu zakończą się niepomyślnie, skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Illumina.
  - ▶ Jeśli jest to możliwe, przeprowadzić ponowną kontrolę systemu z wykorzystaniem innej testowej kasety wielokrotnego użytku i testowej komory przepływowej wielokrotnego użytku.
  - ▶ Udostępnić wyniki kontroli systemu działowi pomocy technicznej.Jeśli dział pomocy technicznej nie może rozwiązać problemu zdalnie, rozpoczyna się procedura zwrotu i wysyłane jest zamówienie na system zastępczy.
- 2 Po otrzymaniu systemu zastępczego:
  - ▶ Rozpakować go i zainstalować zgodnie z *plakatem instalacyjnym sekwenatora iSeq 100* (nr dokumentu: 1000000035963).
  - ▶ **Zachować wszystkie elementy opakowania** — jest ono wymagane do zwrotu oryginalnego systemu oraz elementów testowych wielokrotnego użytku.
  - ▶ Odłożyć na bok dokumenty zwrotne, które obejmują etykietę zwrotną firmy kurierskiej UPS dla wszystkich przesyłek i fakturę handlową na potrzeby wysyłki międzynarodowej.

## Przygotowanie oryginalnego systemu do zwrotu

Oryginalny system, testową kasetę wielokrotnego użytku oraz testową komorę przepływową wielokrotnego użytku należy zwrócić firmie Illumina w ciągu 30 dni od otrzymania aparatu zastępczego.

## Usuwanie danych i wyłączenie

- 1 Jeśli system jest włączony, należy zapisać i usunąć dane w opisany poniżej sposób.
  - a W eksploratorze plików skopiować wszystkie pliki i foldery, które mają zostać zapisane na przenośnej pamięci USB.
  - b Usunąć wszystkie pliki i foldery, które nie mają zostać przekazane firmie Illumina.

Lokalizacja zapisu danych sekwencjonowania może zostać skonfigurowana przez użytkownika, lecz domyślnie jest to **dysk D**.

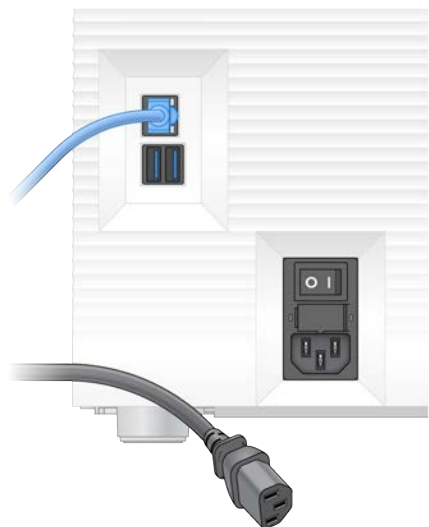
- 2 Wyłączyć system w opisany poniżej sposób.
  - a W menu wybrać **Shut Down System** (Wyłącz system).
  - b Jeśli aparat nie zareaguje na polecenie wyłączenia, nacisnąć i przytrzymać przycisk zasilania po lewej stronie aparatu do momentu, aż kontrolki zgasną.
  - c Gdy przycisk zasilania zacznie migać, wcisnąć przełącznik zasilania z tyłu aparatu po stronie oznaczenia **(O)**.

## Odlączenie przewodów i kabli

- 1 Jeśli kaseeta znajduje się wewnątrz aparatu, uruchomić system ponownie i wyjąć kasetę w opisany poniżej sposób.
  - a Wcisnąć przełącznik zasilania na panelu tylnym po stronie oznaczenia **(I)**.
  - b Gdy przycisk zasilania zacznie migać, nacisnąć go.
  - c Po załadowaniu systemu operacyjnego zalogować się do systemu Windows.
  - d W menu oprogramowania sterującego wybrać opcję **System Check** (Kontrola systemu).
  - e Wybrać opcję **Unload** (Wyładuj), aby wysunąć kasetę, a następnie wyjąć ją z tacy.
  - f Jeśli nie dojdzie do wysunięcia, skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Illumina w celu uzyskania dalszych instrukcji.
  - g Wybrać opcję **Load** (Załaduj), aby wsunąć pustą tacę, a następnie zamknąć drzwiczki.
  - h Zamknąć okno dialogowe System Check (Kontrola systemu), a następnie wyłączyć system.

Wyłączenie i ponowne uruchomienie systemu jest wymagane w celu ustawienia kasety w położeniu umożliwiającym jej wyjęcie.

- 2 Odłączyć przewód zasilający od gniazda ściennego, a następnie od gniazda zasilania prądem przemiennym na panelu tylnym.



- 3 Wykonać poniższe czynności, o ile dotyczy.
  - ▶ Odłączyć kabel Ethernet od gniazda ściennego, a następnie od gniazda Ethernet na panelu tylnym.
  - ▶ Odłączyć klawiaturę i mysz od portów USB na panelu tylnym.

## Odkazanie aparatu

Wysyłka aparatu wymaga przeprowadzenia poniższej procedury odkazania, a jej ukończenie jest następnie sprawdzane przez firmę Illumina. W przypadku systemów obsługiwanych w laboratorium o 2. lub 3. poziomie bezpieczeństwa biologicznego i zagrożeń zależnych od placówki może być wymagane dodatkowe odkazanie.

## Odkazanie wybielaczem

- 1 Założyć nowe rękawiczki bez talku.
- 2 Obniżyć monitor aparatu.
- 3 Delikatnie pociągnąć drzwiczki przedziału kasety od strony krawędzi bocznych, aby je otworzyć.

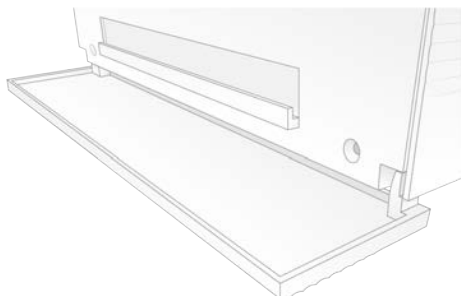


- 4 Wyczyścić całe drzwiczki przedziału chusteczką nasączoną wybielaczem:
  - ▶ drzwiczki od strony wewnętrznej,
  - ▶ drzwiczki od strony zewnętrznej,

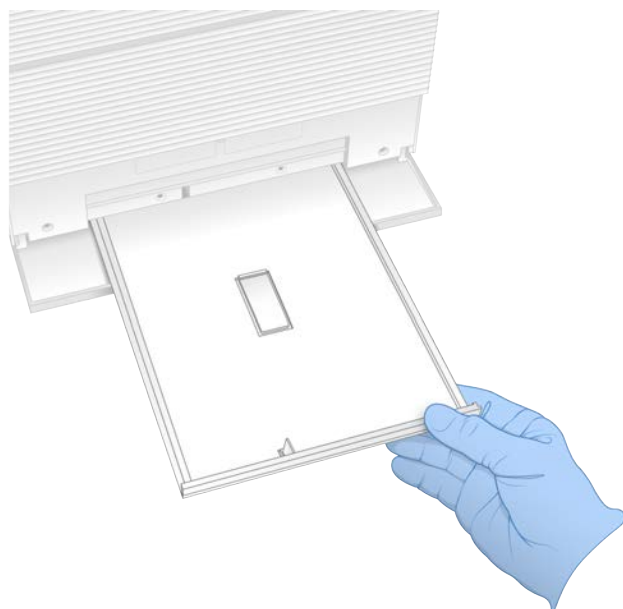
- ▶ zawiasy drzwiczek.

5 Zamknąć drzwiczki przedziału kasety.

6 Odszukać drzwiczki tacki ociekowej poniżej przedziału kasety z przodu aparatu, a następnie obniżyć drzwiczki.



7 Otworzyć tackę ociekową i wyjąć podkładkę do tacki ociekowej.



8 Za pomocą ręczników papierowych zetrzeć z dna tacki wszelkie pozostałości płynu.

9 Zutylizować podkładkę i pozostałe materiały eksploatacyjne zgodnie z normami obowiązującymi w danym kraju.

Więcej informacji zawiera karta charakterystyki (ang. Safety Data Sheet, SDS) dostępna na stronie [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

10 Wyczyścić tackę ociekową chusteczką z wybielaczem.

11 Odczekać 15 minut, aby wybielacz zadziałał.

## Neutralizacja alkoholem

1 Zwilżyć szmatkę lub ręczniki papierowe wodą.

Dopuszczalna jest woda dowolnej klasy, w tym woda z kranu.

2 Przetrzeć za pomocą zwilżonej ściereczki lub ręczników papierowych następujące elementy:

- ▶ tacka ociekowa,

- ▶ drzwiczki przedziału kasety (wewnątrz i na zewnątrz, z uwzględnieniem zawiasów). Woda zapobiega wymieszaniu wybielacza z alkoholem.
- 3 Ponownie oczyścić za pomocą chusteczki nasączonej alkoholem następujące elementy:
    - ▶ tacka ociekowa,
    - ▶ drzwiczki przedziału kasety (wewnątrz i na zewnątrz, z uwzględnieniem zawiasów). Alkohol usuwa resztki wybielacza, który może powodować korozję.
  - 4 Upewnić się, że drzwiczki tacki ociekowej i przedziału kasety są zamknięte.
  - 5 Wyczyścić stół laboratoryjny wokół aparatu za pomocą chusteczek nasączonych wybielaczem lub roztworu wybielacza.

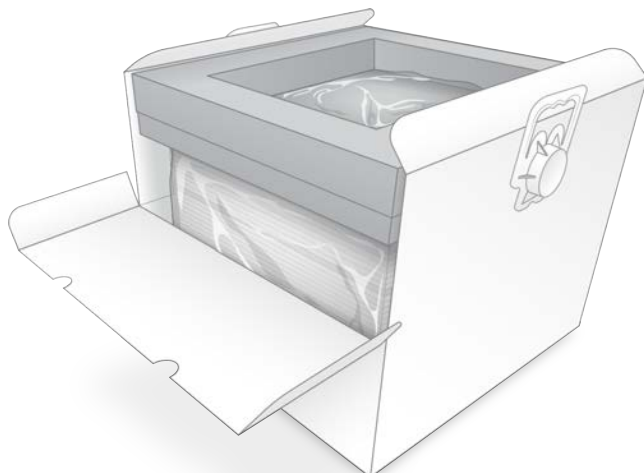
## Zwrot oryginalnego systemu

### Pakowanie aparatu

- 1 Przygotować odpowiednią ilość wolnego miejsca w laboratorium na aparat i opakowanie.
- 2 Umieścić niewielką podkładkę piankową między obniżonym monitorem i aparatem.
- 3 Nałożyć na aparat szarą plastikową torbę.



- 4 Opuścić przednią klapę białego opakowania.
- 5 Umieścić aparat w białym opakowaniu tak, aby przód aparatu był skierowany w stronę osoby pakującej.
- 6 Położyć kwadratową piankę na aparacie tak, aby cieńsze strony pianki leżały na przedniej i tylnej części aparatu. Upewnić się, że pianka jest wyrównana względem górnej części opakowania.



- 7 Zamknąć przednią klapę, a następnie zamknąć górną część opakowania.

### **Pakowanie elementów testowych wielokrotnego użytku**

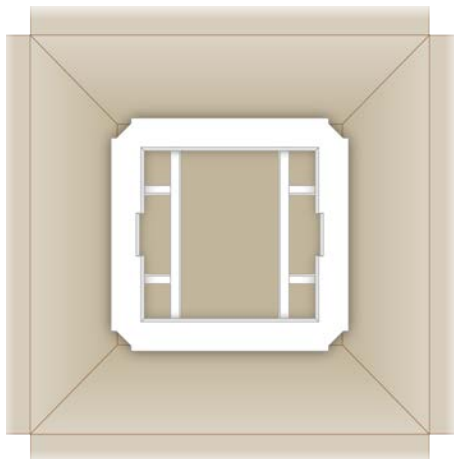
- 1 Umieścić testową kasetę wielokrotnego użytku iSeq 100 w większej, zamykanej torebce, a następnie zamknąć ją.
- 2 Umieścić testową komorę przepływową wielokrotnego użytku iSeq 100 w kasetce.
- 3 Umieścić kasetkę w mniejszej, zamykanej torebce i zamknąć ją.
- 4 Umieścić obie zamykane torebki w opakowaniu na akcesoria do sekwenatora iSeq 100.



- 5 Zamknąć opakowanie na akcesoria.

## Wysyłka systemu

- 1 Jeśli z opakowania transportowego wyjęto dolne zabezpieczenie piankowe, umieścić je ponownie na dnie brązowego pudełka.



- 2 Podnieść białe opakowanie za uchwyty (zaleca się wykonywanie tej czynności przez dwie osoby), a następnie umieścić je we wnętrzu brązowego opakowania. Orientacja jest dowolna.

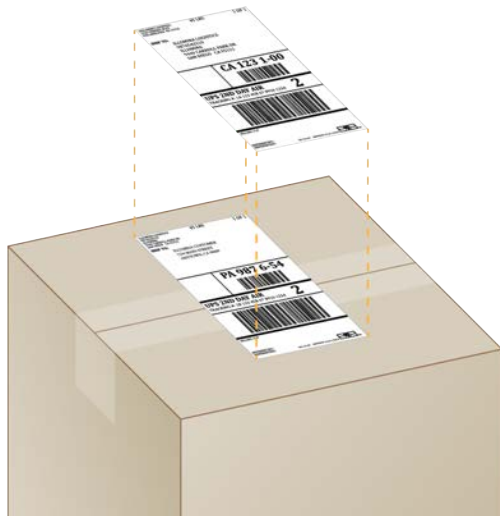


### **PRZESTROGA**

Podczas transportu białe opakowanie musi być umieszczone wewnątrz brązowego opakowania. Na białym opakowaniu nie należy umieszczać etykiet transportowych.

- 3 Umieścić górne zabezpieczenie piankowe na białym pudełku.
- 4 Umieścić opakowanie z akcesoriami pośrodku zabezpieczenia piankowego.
- 5 Umieścić czarną podkładkę piankową na opakowaniu z akcesoriami.
- 6 Jeśli dział pomocy technicznej firmy Illumina zażądał zwrotu przewodu zasilającego, należy umieścić go w brązowym opakowaniu.
- 7 Zamknąć brązowe opakowanie i zabezpieczyć je taśmą pakową.

- 8 Umieścić etykietę zwrotną na oryginalnej etykiecie transportowej lub usunąć oryginalną etykietę transportową.



- 9 **(Wysyłka międzynarodowa)** Przymocować fakturę handlową do opakowania transportowego.
- 10 Odesłać aparat do firmy Illumina, korzystając z usług firmy kurierskiej UPS.
- ▶ Jeśli laboratorium planowo codziennie odbiera przesyłki od firmy UPS, przekazać kurierowi oznaczone etykietą opakowanie transportowe.
  - ▶ Jeśli laboratorium na co dzień nie odbiera przesyłek dostarczanych przez firmę UPS, skontaktować się z działem obsługi klienta firmy Illumina w celu zaplanowania transportu zwrotnego aparatu.



# Indeks

## %

%kłastrów PF 30, 33-34  
%PF 21, 30, 33-34, 45  
%udziału 21, 30, 33-34

## A

adaptery indeksu i5 32  
adaptery indeksu i7 32  
adresy IP 6  
aktualizacje automatyczne 35  
aktualizacje oprogramowania sprzętowego 36  
algorytm Phred 46  
amplifikacja 21  
AmpliSeq Library PLUS for Illumina 21  
analiza  
    metody 5, 21  
    poza aparatem 21  
    status 7  
analiza lokalna 1  
analiza obrazu 5  
analiza oparta na chmurze 1  
analiza poza aparatem 21  
aparat  
    instalacja 56  
    masa 39  
arkusz próbek  
    szablony 31  
arkusze próbek 29, 31-32, 43  
    nazewnictwo 15  
    szablony 15  
automatyczne uruchamianie przebiegu 30, 33

## B

BaseSpace Sequence Hub 1  
    ustawienia ekspresowe 13  
    wczytywanie plików 7  
    wymagania dotyczące arkusza próbek 15  
bezpieczeństwo i zgodność z przepisami 2  
białe opakowanie 60  
biblioteki 1, 9  
    denaturacja 21  
    przechowywanie w stężeniu 1 nM 24  
    stężenia wyjściowe 24  
biblioteki dwuniciowe 23  
biblioteki kontrolne 12

błędy 6, 43, 48  
    komunikaty 47  
    prawdopodobieństwo 46  
błędy wstępnego testu kontrolnego 49  
BSL-2 58  
BSL-3 58  
bufor do ponownego zawieszania 19, 24

## C

chusteczki nasączone alkoholem 19  
chusteczki nasączone wybielaczem 19  
ciecze, wyciek 51  
cykle dodatkowe 22  
cykle indeksów 22  
cykle odczytu 32  
cykle zamrażania i rozmrażania 22  
części podlegające serwisowaniu 56  
części zamienne 37  
czujnik optyczny 8  
czujniki 48  
czujniki CMOS 8, 27, 42  
czynności wykonywane w systemie 21  
czyszczenie komór przepływowych 49

## D

dane dotyczące działania aparatu 29, 32  
dane prognozowanego uzysku całkowitego 30, 33-34  
dane uzysku 30, 33-34  
denaturacja 21  
denaturacja bibliotek 21, 23  
DesignStudio 1  
diagnostyka 49  
długości odczytu 22  
dokumentacja 1, 70  
domeny 14  
domeny prywatne 14  
domyślny folder wyjściowy 17, 29  
dopasowanie kontroli PhiX 45  
dopasowanie specyfikacji 48  
dostęp zdalny 28  
drzwiczki  
    przeznaczenie 4  
    ręczne otwieranie 58  
    zamykanie 28, 32  
dysk C 17, 54  
dysk D 6, 17, 35, 57

dysk twardy 6, 35  
dyski wewnętrzne 17  
dyski zewnętrzne 17

## E

edycja parametrów przebiegu 29  
edytor rejestru 36  
EEPROM 8  
Ethernet 3, 39  
Ethernet, włączanie 18  
etykiety 10  
etykiety transportowe 62

## F

fabryczne ustawienia domyślne 54  
faktura handlowa 62  
fartuchy laboratoryjne 22  
fazowanie 44  
fazowanie i fazowanie wyprzedzające 22  
fazowanie wyprzedzające 44  
filtrowanie klastrów 45  
filtry powietrza 56  
    części zamienne 19  
    lokalizacja 37  
folder przebiegów 35  
folder przebiegu 17, 42  
folder wyjściowy 7, 29, 32, 35, 41  
    domyślna lokalizacja 17  
    lokalizacja domyślna 42  
    uzyskiwanie dostępu 12  
formamid 30, 34  
format pliku TSV 43  
fragmenty protokołu 6

## G

gniazdo Ethernet 52, 57  
gniazdo ścienne 52, 57  
grupy robocze 29, 32  
gwarancja 19

## I

IDT for Illumina TruSeq UD Indexes 45  
ikona pomocy 28, 31  
ikony 6  
Illumina Proactive Support 13-14  
iluminator 9

indeks  
    cykle 10  
indeksy  
    odczyty 32  
    sekwencje adaptera 45  
inicjalizacja 39, 49, 53  
    niepowodzenie 48  
instalacja oprogramowania 35  
instalator System Suite 35  
intensywność 44  
interfejs elektryczny 8, 27

## K

kabel Ethernet 52, 57  
karta charakterystyki 30, 34, 52-53, 59  
karta Customization (Dostosowanie) 12, 16  
karta Network Access (Dostęp do sieci) 12, 17  
karta Settings (Ustawienia) 12-13  
kaseta  
    opakowanie 22  
    orientacja ładowania 28, 32  
    przechowywanie 8, 48  
    użyłizacja 30, 34, 48  
    zablokowanie w aparacie 57  
kąpiele wodne 22  
klastry  
    filtrowanie 45  
    lokalizacja 41  
    optymalizowanie 21  
klawiatury 3, 12  
kod partii 10  
komory przepływowe  
    liczba cykli 10  
    pasma 8  
    przechowywanie 8  
    użyłizacja 30, 34  
konfiguracja przebiegu  
    ekrany 28, 31  
    konfigurowanie opcji 13-14  
konto administratora 12  
konto użytkownika 12  
kontrola aparatu 30, 33  
kontrola jakości, biblioteki 23  
kontrola przepływu 30, 33  
kontrola systemu 47, 52-53  
    czas trwania 49  
    wyniki 49  
konwersja pliku 41  
konwertowanie plików 41  
kończenie przebiegów 48

korozja, zapobieganie 59

## L

limity użycia, elementy testowe wielokrotnego użyciu 5, 49

listwa oświetleniowa 3

Local Run Manager 5

arkusze próbek

tworzenie 15

dokumentacja 29

dostęp zdalny 28

instrukcje wykonywania procedur 29

moduły 35

pobieranie 35

status 7

tworzenie przebiegów 28

ustawienia ekspresowe 13

lokalizacje hostingowe 13-14

## M

maksymalizowanie oprogramowania sterującego 12

maksymalna liczba cykli 22

masa 39

materiały eksploatacyjne

opakowania 10

ponowne użycie 30, 33

skanowanie 28, 32

śledzenie 1, 8-9

użytkowanie 30, 34

metody normalizacji 23

miejsce na dysku 6, 35

miniatury 16

minimalna liczba cykli 22

modele obsługi technicznej 56

monitor 3

monitorowanie zdalne 29, 32

mycie 9

mysz 3, 12

## N

nanodołki 44

narzędzie do tworzenia protokołów niestandardowych 2

nazewnictwo

arkusze próbek 15

nazwa komputera 6

pseudonim aparatu 16

nazwa przebiegu 32

nazwy komputerów 6

Nextera DNA Flex 21

Nextera Flex for Enrichment 21

NGS 1

niebezpieczne substancje chemiczne 10, 30, 34

niepomyślna kontrola systemu 49

nieukończony proces 47

nukleotydy 21, 44

numer seryjny 42

numery katalogowe 10, 19

numery serii 10

numery seryjne 6

## O

obrazowanie 21

obrazy 16, 41, 43-44

obrazy miniatur, zapisywanie 16

obsługa klienta 70

odczynniki 7, 9

przechowywanie 8

użytkowanie 30, 34, 48

zgodność oprogramowania 9

odczynniki iSeq 100 i1 19

odłączanie 52

odnawianie 56

odpady elektroniczne 30, 34

odpady elektryczne 48

odsetek udziału 21, 30, 33-34

okno dostępu, kaseeta 9

okulary ochronne 22

opakowanie

kaseeta 22

komora przepływowa 27

użytkowanie 27

opakowanie na akcesoria 61

opcje adaptera, Wi-Fi 18

opcje analizy danych 13-14

oprogramowanie

instalacja 35

powiadomienia o aktualizacjach 36

ustawienia aktualizacji 16

ustawienia dotyczące aktualizacji 17

zgodność odczynników 9

zmiana na niższą wersję 54

oprogramowanie do konwersji bcl2fastq 41

optymalizowanie stężenia ładowania 21

orientacje adaptera Index 2 31

orientacje i5 31

ostrzeżenia 6, 35, 43, 48  
oznaczenie  
przeznaczenie 1

## P

pakiet oprogramowania 1, 5  
pakowanie 62  
transport zwrotny 56  
pasek stanu 3  
pasek zadań systemu Windows 12  
pasma, komora przepływowa 8  
PF 45  
PhiX 12, 19  
pierwsza konfiguracja 37, 54  
plakat instalacyjny 2, 56  
pliki BCL 6, 41  
pliki dziennika 43  
pliki FASTQ 41  
pliki filtrów 41  
pliki InterOp 41  
pliki konfiguracyjne 41  
pliki rozpoznania nukleotydów 21, 41  
płyny, wyciek 51  
płytki 41  
podkładki 19, 53, 59  
podsystemy 49  
pojedynczy odczyt 29, 32  
pomiar czystości 45  
pomoc techniczna 70  
pomoc, techniczna 70  
pomyślna kontrola systemu 49  
ponowne podłączanie 53  
ponowne uruchamianie 54  
porty USB 3, 36  
powiadomienia 36  
poziomy intensywności 44  
producent 10  
progi jakości 45  
protokoły, oprogramowanie 35  
przebiegi  
edycja parametrów 29  
monitorowanie w platformie BaseSpace  
Sequence Hub 13-14  
rozmiar 16, 35  
sprawdzanie statusu 6, 30, 33-34  
zapisywanie w platformie BaseSpace  
Sequence Hub 13-14  
zliczanie 6, 42  
przechowywanie  
kasety po rozmrożeniu 22

rozcieńczone biblioteki 24  
zestawy odczynników 8  
przedział materiałów eksploatacyjnych 3  
przeładowanie Chromium  
otwieranie 28  
pusty ekran 28  
przejście przez filtry 21, 30, 33-34  
przełącznik 3, 39, 48  
przenoszenie 39  
przesuwanie 3  
przewodnik po tworzeniu puli 45  
przewód zasilający 3, 39, 52, 57  
przycisk zasilania 3, 39, 48  
przygotowanie miejsca 17, 60  
przygotowanie miejsca instalacji 2, 39  
pseudonim 16  
punkty uchwytu 8, 27  
pusty ekran, przeglądarka Chromium 28

## Q

Q-score 46  
Q30 30, 33-34

## R

ręczne aktualizacje oprogramowania 35  
RFID 2, 9  
rodzaje kont 12  
rozcieńczanie bibliotek 21  
rozpakowywanie 56  
rozpoznawanie nukleotydów 5, 21, 45  
RSB 19  
RunInfo.xml 41

## S

sbsadmin a sbsuser 12  
SDS 53, 59  
sekwencje adaptera 15, 31  
sekwencjonowanie  
cykle 10  
odczyty 10  
procedura 1  
sekwencjonowanie jednobarwnikowe 21, 44-45  
sekwencjonowanie w trybie sparowanych  
końców 29  
Sequencing Analysis Viewer 41  
sieć  
ustawienia domyślne 17

- wytyczne 17
- sparowane końce 32
- specyfikacje chłodziarki 20
- specyfikacje zamrażarki 20
- stężenia ładowania 21
- stężenia wyjściowe 24
- strony pomocy technicznej, witryna internetowa 35
- subskrypcje Enterprise 14
- suchy lód 22
- symbole 10
- system operacyjny 39, 49, 53
- System Settings (Ustawienia systemu) 12, 16
- szablon, arkusz próbek 15, 31

## Ś

- śledzenie materiałów eksploatacyjnych 1, 8-9
- środki ochrony indywidualnej 22

## T

- tabele jakości 46
- taca 4
- taca na kasetę 4
- tacka ociekowa 51
  - drzwiczki 53, 59
  - lokalizacja 53, 59
  - podkładki 19, 56
- terenowi pracownicy serwisu 56
- terminy ważności 10, 37
- testowa kasetka wielokrotnego użytku 49, 57
- testowa komora przepływowa wielokrotnego użytku 49, 57
- TruSeq DNA Nano 21
- TruSeq DNA PCR-Free 21
- tryb Local Run Manager
  - dokumentacja 1
- tryb Local Run Manager, informacje ogólne 28
- tryb ręczny
  - informacje 31
  - pliki FASTQ 31, 41
- typy odczytu 22, 32

## U

- układ przepływowy 9
- Universal Copy Service 5, 7, 17, 35
- uporządkowane komory przepływowe 8
- UPS 62

- ustawienia
  - edycja 13-14
  - pierwsza konfiguracja 12
- ustawienia audio 16
- ustawienia dźwięku 16
- ustawienia konfiguracji 43
- ustawienia konfiguracji ekspresowej 13
- ustawienia zlokalizowane 13-14
- usuwanie danych 57
- usuwanie przebiegów 6, 35
- uszczelki 27
- utracone połączenia 48
- użycie wybielacza 58

## W

- warunki przechowywania 8, 10
- wentylatory 37
- wersje oprogramowania 9
- Wi-Fi, włączanie 18
- wiersze poleceń 18
- Windows
  - konta 12
  - logowanie 39, 49, 53
  - ustawienia 18
- Windows 10, pomoc 18
- wyciekanie 52
- wyciszanie 16
- wydajność demultipleksacji 45
- wykaz próbek 43
- wyłączanie 39, 48, 52, 57
- wyłączanie i ponowne włączanie aparatu 30, 33, 47
- wyłączanie zasilania 52, 57
- wyłączenie i ponowne włączenie zasilania 18
- wyniki jakościowe 21
- wyniki Q-score 30, 33-34
- wysyłka międzynarodowa 62
- wznawianie przebiegów 48

## Z

- zablokowana kasetka 57
- zamiennik bufora do ponownego zawieszania 24
- zamiennik bufora do ponownego zawieszania 19
- zarządzanie procesem 30, 33-35
- zasady G 45
- zasady, kodowanie danych 44
- zasilanie prądem przemiennym
  - gniazdo 39, 52, 57
  - wejście 3

- zatrzymany proces 47
- zatrzymywanie przebiegów 48
- zbiorniczek na bibliotekę 26
- zestaw testowy 19
- zestaw testowy systemu iSeq 100 19, 49
- zestawy 7, 19
  - numery katalogowe 19
- zestawy do przygotowywania bibliotek 1, 21
- zestawy odczynników 7
- zmiana wersji oprogramowania na niższą 54
- zróżnicowanie nukleotydów 45
- zużyte odczynniki 4, 9
- zwracanie systemów 56
- zwroty
  - dokumenty 56
  - etykiety 62
  - terminy realizacji 57

# Pomoc techniczna

W celu uzyskania pomocy technicznej należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Illumina.

Witryna: [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
Adres e-mail: [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

## Numery telefonów do działu pomocy technicznej firmy Illumina

Region	Bezpłatne	Regionalne
Ameryka Północna	+1 800 809 4566	
Australia	+1 800 775 688	
Austria	+43 800006249	+43 19286540
Belgia	+32 80077160	+32 34002973
Chiny	400 066 5835	
Dania	+45 80820183	+45 89871156
Finlandia	+358 800918363	+358 974790110
Francja	+33 805102193	+33 170770446
Hiszpania	+34 911899417	+34 800300143
Holandia	+31 8000222493	+31 207132960
Hongkong, Chiny	800960230	
Irlandia	+353 1800936608	+353 016950506
Japonia	0800 111 5011	
Korea Południowa	+82 80 234 5300	
Niemcy	+49 8001014940	+49 8938035677
Norwegia	+47 800 16836	+47 219 39693
Nowa Zelandia	0800 451 650	
Singapur	+1 800 579 2745	
Szwajcaria	+41 565800000	+41 800200442
Szwecja	+46 850619671	+46 200883979
Tajwan, Chiny	00806651752	
Wielka Brytania	+44 8000126019	+44 2073057197
Włochy	+39 800985513	+39 236003759
Inne kraje	+44 1799 534000	

Karty charakterystyki — dostępne na stronie firmy Illumina pod adresem [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

Dokumentacja produktu jest dostępna do pobrania na stronie internetowej [support.illumina.com](http://support.illumina.com).



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122, USA

+1 800 809 ILMN (4566)

+1 858 202 4566 (poza Ameryką Północną)

[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

[www.illumina.com](http://www.illumina.com)

**Tylko do celów badawczych. Nieprzeznaczone do procedur diagnostycznych.**

© 2020 Illumina, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

**illumina**<sup>®</sup>