

MiniSeq

系统指南



本文档及其内容归 Illumina, Inc. 及其附属公司（以下简称“Illumina”）所有，并且仅供其客户用于与本文档内所述产品用途相关的合同用途，不得用于其他任何目的。若事先未获得 Illumina 的书面许可，不得出于任何其他目的使用或分发本文档及其内容，以及/或者以其他任何方式对其进行传播、披露或复制。Illumina 不通过本文档向第三方授权其任何专利、商标、所有权或普通法权利或类似权利。

必须由具备资质且受过相关培训的人员严格明确遵照本文档中的说明操作，以确保本文档中所述产品的使用适当且安全。在使用此类产品之前，相关人员必须通读并理解本文档中的所有内容。

未能完整阅读并明确遵守本文档中包含的所有说明可能会导致产品损坏、对用户或其他人员造成人身伤害以及对其他财产造成损害，并且将导致产品适用的保证失效。

对于由不当使用本文档中描述的产品（包括其部件或软件）引起的任何后果，ILLUMINA 概不承担任何责任。

© 2021 Illumina, Inc. 保留所有权利。

所有商标均为 Illumina, Inc. 或其各自所有者的财产。有关特定的商标信息，请参见 www.illumina.com/company/legal.html。

修订历史记录

文档	日期	更改描述
材料号 20014309 文档号 1000000002695 v05	2021 年 4 月	标签从 8 次循环更改为 10 次循环。
材料号 20014309 文档号 1000000002695 v04	2020 年 9 月	更新了有关快速试剂盒的装入浓度和软件信息。
材料号 20014309 文档号 1000000002695 v03	2020 年 2 月	更新了手动模式和 Local Run Manager 运行选项的工作流程信息。 更新了预安装的基因组：删除了 <i>Bacillus_cereus</i> _ATCC_10987 并添加了 HumanRNAFusion。 删除了有关 BaseSpace Onsite 的信息，因为其已不再受支持。 对文本进行了细微的编辑。
材料号 20014309 文档号 1000000002695 v02	2018 年 3 月	在“配置分析设置”部分添加了有关 Illumina Proactive 监控服务的信息。 删除了登录操作系统所需的默认用户名和密码。Illumina 建议使用站点专用的凭据。 对文本进行了细微的编辑。
材料号 20014309 文档号 1000000002695 v01	2016 年 9 月	更新了 MiniSeq Control Software v1.1.8 的软件描述，其中包括演示模式。 将运行后自动清洗的持续时间更新为 60 分钟。 在选择 BaseSpace 进行分析的说明中添加了服务器配置步骤。 注意，Local Run Manager 软件不支持映射驱动器。
材料号 20002370 文档号 1000000002695 v00	2016 年 1 月	初始版本。

目录

第 1 章概述	1
简介	1
更多资源	1
仪器组件	2
测序耗材概述	4
预装的数据库和基因组	6
第 2 章入门	7
启动仪器	7
自定义系统设置	7
用户自备的耗材和设备	9
第 3 章测序	11
简介	11
准备耗材	11
制备测序文库	12
设置测序运行	13
监控运行进度	21
运行后自动清洗	22
从位置 9 处取下用过的槽	23
第 4 章维护	25
简介	25
执行手动仪器清洗	25
软件更新	28
附录 A 故障诊断	31
故障诊断文件	31
自动检查错误	32
RTA 错误	33
再次杂化工作流程	33
系统检查	35
网络配置设置	37
自定义基因组	38
关闭仪器	38
附录 B Real-Time Analysis	39
Real-Time Analysis 概述	39
输入和输出文件	39
Real-Time Analysis 工作流程	39
附录 C 输出文件	43

测序输出文件	43
测序输出文件夹结构	44
分析输入文件要求	44
索引	45
技术协助	48

第 1 章概述

简介	1
更多资源	1
仪器组件	2
测序耗材概述	4
预装的数据库和基因组	6

简介

Illumina® MiniSeq™ 系统是一款简单易用、具成本效益的便捷桌面系统，提供高品质的行业标准 Illumina 测序技术。

特点

- ▶ **高质量测序** — 借助 MiniSeq 系统，使用较低的文库量便可实现小基因组、扩增子、靶向富集和 RNA 测序。
- ▶ **MiniSeq 系统软件** — MiniSeq 系统包含一套用于控制仪器操作、处理图像和生成碱基检出的集成软件。这套软件中包含仪器内数据分析软件，以及便于用户使用 BaseSpace Sequence Hub 等其他选项进行分析的数据传输工具。
 - ▶ **仪器内数据分析** — Local Run Manager 软件会根据为运行所指定的分析模块来分析运行数据。该软件中包含一套分析模块。
 - ▶ **BaseSpace® Sequence Hub 集成** — 测序工作流程与 BaseSpace Sequence Hub 相集成，后者是 Illumina 用于运行监控、数据分析、存储和协作的基因组计算环境。输出文件会实时传输到 BaseSpace Sequence Hub 中以供分析。
- ▶ **耗材方便装载** — 将流动槽装到仪器上时，一种卡紧机械装置会将流动槽安置到位。预先注入试剂的一次性试剂夹盒中提供了运行及后续仪器清洗所需的试剂。流动槽和试剂夹盒采用了集成式识别技术，可实现精确跟踪。

更多资源

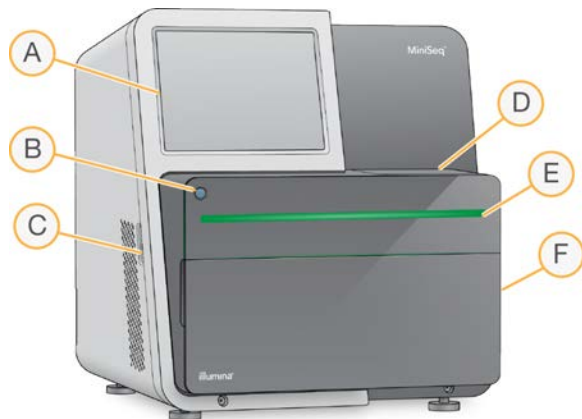
Illumina 网站上的 [MiniSeq 系统支持页面](#) 提供了更多资源。这些资源包括软件、培训、兼容产品及以下文档。请务必查看支持页面获取最新版本。

资源	描述
Custom Protocol Selector	用来生成定制的端到端文档的向导，会针对测序运行所用的文库制备方法、运行参数和分析方法而调整。
《MiniSeq 系统场地准备指南》 (文档号 1000000002696)	提供实验室空间规范、电气要求和环境注意事项。
《MiniSeq 系统安全和合规性指南》 (文档号 1000000002698)	提供有关操作安全注意事项、合规性声明和仪器标签的信息。
《RFID 读写器合规性指南》 (文档号 1000000002699)	提供有关仪器中的 RFID 读写器、合规认证和安全注意事项的信息。
《MiniSeq 系统变性和稀释文库指南》 (文档号 1000000002697)	提供有关为测序运行稀释及变性已制备的文库以及制备可选 PhiX 对照品的说明。
《Local Run Manager 软件指南》 (文件号 1000000002702)	提供有关使用 Local Run Manager 软件及可用分析选项的信息。

仪器组件

MiniSeq 系统包括一个触摸屏显示器、一个状态栏、一个流动槽仓和一个试剂仓。

图 1 仪器组件

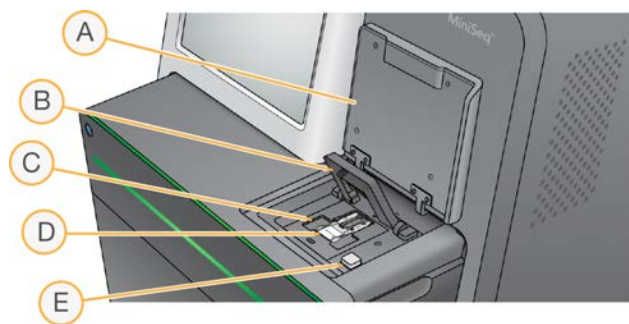


- A **触摸屏显示器** — 让用户可以使用控制软件界面进行仪器内配置和设置。
- B **电源按钮** — 打开集成的仪器计算机和操作系统。
- C **USB 端口** — 方便连接外设组件的接口。
- D **流动槽仓** — 在测序运行期间安放流动槽。
- E **状态栏** — 指出仪器状态，包括：处理中（蓝色）、需要监护（橙色）、可供测序（绿色）或接下来的 24 小时内需要进行清洗（黄色）。
- F **试剂仓** — 安放试剂夹盒和废试剂瓶。

流动槽仓

流动槽台上配有流动槽锁，流动槽锁在关闭时会将流动槽锁住。当锁关闭时，靠近锁底部的插销会对准连接射流的流动槽端口。

图 2 流动槽仓



- A 流动槽仓门
- B 流动槽锁
- C 流动槽台
- D 流动槽
- E 流动槽开锁按钮

热力站位于流动槽台下方，控制簇生成和测序所需的温度变化。

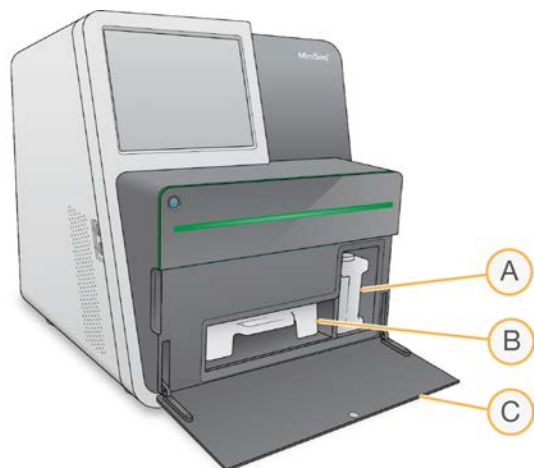
**注意**

切勿将物品放置在仪器上靠近流动槽仓的位置。

试剂仓

如果要在 MiniSeq 系统上设置测序运行，需要进入试剂仓，以便装入运行耗材和清空废试剂瓶。

图 3 试剂仓



- A **废试剂瓶** — 包括一个螺纹帽以防携带时有液体洒出。
- B **试剂夹盒** — 用一次性预装耗材提供试剂。
- C **试剂仓门** — 可经此处进入试剂仓。

试剂仓门从仪器底部边缘的铰链向外打开。要打开仓门，请从仓门各边的边缘向外轻拉。

**注意**

请勿在试剂仓门上放置物品。仓门不可用作置物架。

电源按钮

仪器正面的电源按钮可以为仪器和仪器计算机接通电源。该电源按钮根据仪器电源的状态执行以下操作。

电源状态	操作
仪器电源已关闭	轻按按钮可开启电源。
仪器电源已开启	轻按按钮可关闭电源。屏幕上会显示对话框，以确认正常的仪器关机。
仪器电源已开启	长按电源按钮 10 秒钟不放，会强制仪器和仪器计算机硬性关机。除非仪器失去响应，否则请勿使用此方法关闭仪器。

**注意**

在正常情况下，请勿关闭仪器电源。

如果在测序运行期间关闭仪器，会导致运行立即结束。结束运行操作不可逆。此时将无法重复使用运行耗材，并且无法保存测序数据。

系统软件

仪器软件套装包括用于执行测序运行和仪器内分析的集成式应用程序。

- ▶ **MiniSeq Control Software** — 该控制软件会逐步引导您完整地设置测序运行、控制仪器操作，并在运行过程中显示运行统计信息概述。
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA) 软件** — RTA 会在运行期间执行图像分析和碱基检出。请参见 [Real-Time Analysis 概述 \(第 39 页\)](#)。
- ▶ **Local Run Manager** — 在测序之前，使用 Local Run Manager 指定运行参数和分析方法。测序之后，仪器内数据分析会自动开始。有关详细信息，请参见《Local Run Manager 软件指南》(文档号 1000000002702)。

状态图标

控制软件界面屏幕右上角的状态图标指示运行设置或运行期间的状况改变。

状态图标	状态名称	描述
	状态正常	系统正常。
	正在处理	系统正在处理。
	注意	需要注意。
	警告	出现警告。 警告不会使运行停止，或需要执行操作才能使运行继续。
	错误	发生错误。 如果有错误，需要执行操作后才能继续运行。

当状况发生变化时，图标会闪烁，以向您示警。选择图标可查看对该状况的说明。选择 **Acknowledge (确认)** 接受消息，然后选择 **Close (关闭)** 关闭对话框。

测序耗材概述

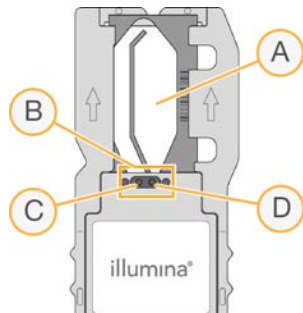
在 MiniSeq 系统上执行测序运行需要使用一次性 MiniSeq 试剂盒。每个试剂盒均包含一个流动槽和一次测序运行所需的试剂。

流动槽和试剂夹盒使用射频识别 (radio-frequency identification, 简称 RFID) 进行精确的耗材跟踪并确保与指定运行参数的兼容性。

流动槽

流动槽是玻璃制底物，用于生成簇并执行测序反应。它封装在流动槽夹盒中。

图 4 流动槽组件



- A 成像区域
- B 流动槽垫片
- C 出口
- D 入口

试剂通过入口进入流动槽，通过单泳道成像区域，然后从出口流出流动槽。

流动槽装在流动槽管中，外面用箔纸包装封装，确保运送期间为干燥状态。请将流动槽使用密封箔纸包装，并存储在 2°C 至 8°C 的环境中以备使用。有关详细信息，请参见准备流动槽（第 12 页）。

试剂夹盒概述

试剂夹盒属于一次性耗材，配有预先装入簇生成试剂、测序试剂和清洗试剂的封箔槽。

图 5 试剂夹盒



试剂夹盒上有一个指定的槽，用于装入所制备的文库。运行开始后，系统会自动将试剂夹盒中的文库传送到流动槽。



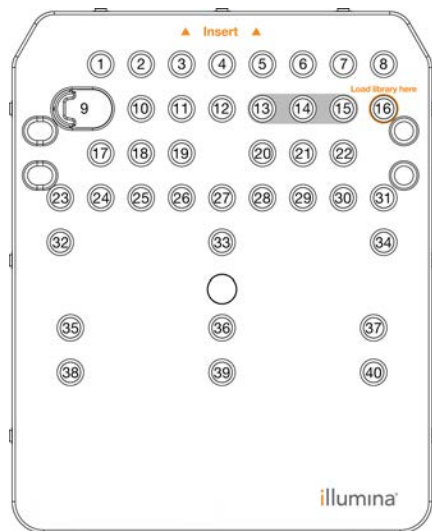
警告

这组试剂含有潜在危险化学品。吸入、摄取、皮肤接触和眼睛接触都会对身体造成伤害。请穿戴防护装备，包括适合的护目用具、手套和实验室工作服以避免伤害。将废试剂作为化学废物处理，并根据适用的区域、国家和当地法律及法规丢弃。有关环境、健康和安全的更多信息，请参见 support.illumina.com/sds.html 中的 SDS。

在使用前将试剂夹盒存储在 -25°C 到 -15°C 的环境中。有关详细信息，请参见准备试剂夹盒（第 11 页）。

预留的槽

图 6 带编号的槽



位置	描述
13、14 和 15	为可选的自定义引物预留
16	装入文库

位置 9 处的可卸槽

预先注入试剂的试剂夹盒的位置 9 处装入了含有甲酰胺的变性试剂。为了方便您在测序运行后安全处置任何未使用的试剂，这个槽是可以取下来的。有关详细信息，请参见[从位置 9 处取下用过的槽](#)（第 23 页）。

预装的数据库和基因组

使用大多数分析方法进行比对时，都需要有一个参照物。仪器计算机上预装了多个参考数据库和基因组。

预装	描述
数据库	<ul style="list-style-type: none"> · 人类 miRbase · 人类 dbSNP · 人类 RefGene
基因组	<ul style="list-style-type: none"> · 拟南芥 · Bacillus_cereus_ATCC_10987 · 母牛（普通牛） · 大肠杆菌菌株 DH10B · 大肠杆菌菌株 MG1655 · 果蝇（黑腹果蝇） · 人类（智人）版本 hg19 · HumanRNAFusion · 小鼠（小家鼠） · PhiX · 大鼠（褐家鼠） · 类球红细菌 2.4.1 · 金黄色葡萄球菌 NCTC 8325 · 酵母（酿酒酵母 S288C）

第 2 章入门

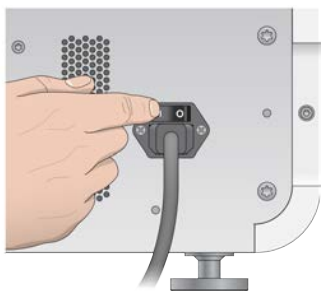
启动仪器	7
自定义系统设置	7
用户自备的耗材和设备	9

启动仪器

确保仪器已正确安装并初始化，并且仪器设置已完成。在仪器就绪之前启动它可能会损坏系统。

- 1 将电源切换开关切换到 I（开）位置。

图 7 位于仪器后面的电源开关



- 2 按试剂仓上方的电源按钮。
电源按钮用于开启集成式仪器计算机和操作系统。

图 8 位于仪器前面的电源按钮



- 3 等待操作系统完成加载过程。
初始化完成后会显示 Windows 主页屏幕。按任意键打开 Windows 登录窗口。
- 4 登录到所需的 Windows 帐户。如果需要，可联系您所在机构的管理员获取用户名和密码。
- 5 如果选择一般用户帐户，MiniSeq Control Software 将自动启动并初始化系统。如果选择管理员帐户，则必须通过双击桌面上的 MiniSeq 系统图标来启动 MiniSeq Control Software。

自定义系统设置

该控制软件包含仪器标识和以下工作流程首选项的可自定义设置：

- ▶ 使用屏幕键盘执行运行设置步骤。
- ▶ 运行结束时清除耗材。

- ▶ 启用音频指示器。
- ▶ 将仪器性能数据发送给 Illumina。
- ▶ 跳过运行前检查确认以自动启动运行。
- ▶ 自动检查软件更新（在 BaseSpace Sequence Hub 中）。
- ▶ 启用客户配方。

自定义仪器标识

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **System Customization（系统自定义）**。
- 2 要为仪器指定头像，请选择 **Browse（浏览）** 并导航至首选的图像。
- 3 在“Nick Name（别名）”字段中，输入仪器的首选名称。
- 4 选择 **Save（保存）** 保存设置，进入后续屏幕。
该图像和名称会显示在每个屏幕的左上角。

设置自动清除选项

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **System Customization（系统自定义）**。
- 2 选中 **Purge consumables at end of run（运行结束时清除耗材）** 复选框。
此设置会使系统在每次运行后自动将试剂夹盒中未使用的试剂清除到废试剂瓶中。如已禁用此设置，则未使用的试剂会保留在试剂夹盒中。



注意

自动清除耗材会导致工作流程时间增加。例如，在执行 300 次循环的运行 (2×151) 后清除试剂大约需要 50 分钟。

- 3 选择 **Save（保存）** 保存设置并退出该屏幕。

设置自动启动选项

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **System Customization（系统自定义）**。
- 2 选中 **Skip pre-run check confirmation（跳过运行前检查确认）** 复选框。
此设置会使系统在成功执行自动检查后自动启动测序运行。如已禁用此设置，请在执行运行前检查后手动启动运行。
- 3 选择 **Save（保存）**。

设置自动检查软件更新

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **System Customization（系统自定义）**。
- 2 选中 **Automatically check for software updates（自动检查软件更新）** 复选框。
需要网络连接。
- 3 选择 **Save（保存）** 保存设置并退出该屏幕。

设置屏幕键盘选项

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **System Customization（系统自定义）**。
- 2 选中 **Use on-screen keyboard（使用屏幕键盘）** 复选框。
此设置会启用在运行设置期间使用屏幕键盘输入数据的功能。

3 选择 **Save (保存)**。

启用音频指示器

1 从“Manage Instrument (管理仪器)”屏幕中，选择 **System Customization (系统自定义)**。

2 选中 **Play audio (播放音频)** 复选框，针对下列事件启动音频指示器。

- ▶ 仪器初始化时
- ▶ 启动运行时
- ▶ 发生错误时
- ▶ 需要用户交互时
- ▶ 运行完成时

3 选择 **Save (保存)**。

将仪器性能数据发送给 Illumina

系统默认会启用“Send Instrument Performance Data to Illumina (将仪器性能数据发送给 Illumina)”选项。这会将非运行仪器性能数据发送到 BaseSpace Sequence Hub 服务器。

用户自备的耗材和设备

进行测序和系统维护需使用以下耗材和设备。

测序所需的耗材

耗材	供应商	用途
1 摩尔/升 NaOH (氢氧化钠)	一般实验室供应商	文库变性，稀释到 0.1 摩尔/升
70% 异丙醇酒精棉 或 70% 乙醇	VWR, 商品目录号 95041-714 (或等效物) 一般实验室供应商	流动槽清洁和一般用途
一次性无粉手套	一般实验室供应商	一般用途
低尘实验室棉巾纸	VWR, 商品目录号 21905-026 (或等效物)	流动槽清洁

用于维护和故障诊断的耗材

耗材	供应商	用途
NaOCl, 5% (次氯酸钠)	Sigma-Aldrich, 商品目录号 239305 (或实验室级等效物)	执行运行后手动清洗; 稀释为 0.12%
Tween 20	Sigma-Aldrich, 商品目录号 P7949	执行手动仪器清洗; 稀释为 0.05%
实验室级用水	一般实验室供应商	执行手动仪器清洗

实验室级用水准则

始终使用实验室级用水或去离子水来执行仪器操作。切勿使用自来水。请仅使用以下等级的水或等效物：

- ▶ 去离子水
- ▶ Illumina PW1
- ▶ 18 兆欧 (MΩ) 水
- ▶ 高纯水
- ▶ 超纯水
- ▶ 分子生物学级用水

设备

物品	来源
冰柜, -25°C 到 -15°C, 无霜	一般实验室供应商
冰桶	一般实验室供应商
冰箱, 2°C 到 8°C	一般实验室供应商

第 3 章测序

简介	11
准备耗材	11
制备测序文库	12
设置测序运行	13
监控运行进度	21
运行后自动清洗	22
从位置 9 处取下用过的槽	23

简介

要在 MiniSeq 系统上执行测序运行，请准备运行耗材，然后按照软件提示设置测序运行。

工作流程概述

簇生成

在簇生成期间，单个 DNA 分子会结合到流动槽的表面，然后进行扩增以形成簇。

测序

使用双通道测序化学反应和特定于每个荧光标记的链终止子的滤光镜组合对簇进行成像。当对流动槽上的一个小区完成成像后，随即会对下一个小区进行成像。此过程会针对测序的每个循环重复进行。图像分析之后，软件会执行碱基检出、过滤和质量评分。

分析

在运行进行时，控制软件会自动将碱基检出 (BCL) 文件传送到指定的输出位置，以进行数据分析。有若干种分析方法可以使用，具体取决于您的应用和针对系统所选的分析配置。

测序运行持续时间

测序运行持续时间取决于执行的循环次数。持续时间最长的运行为 150 次循环的双末端测序运行，再加上最多两个标签片段各十次循环。

有关预期的持续时间和其他系统规格，请访问 Illumina 网站上的 [MiniSeq 系统规格页面](#)。

一个片段中的循环次数

在一个测序运行中，一个片段中执行的循环次数比分析的循环次数多 1 次。例如，要执行 150 次循环的双末端测序运行，请将运行设置为针对每个片段执行 151 次循环 (2 x 151)，总共执行 302 次循环。运行结束时分析 2 x 150 次循环。每个片段中的额外循环用于定相和预定相计算。

准备耗材

准备试剂夹盒

- 1 取出在 -25°C 到 -15°C 的环境中存储的试剂盒。
- 2 使用以下水槽选项解冻试剂。请勿浸泡整个夹盒。解冻后，请先擦干底部然后再继续。

方法	解冻时间	稳定时限
37°C 水槽	35 分钟	最长 2 小时
室温水槽 (19°C 到 25°C)	90 分钟	最长 24 个小时

如果将多个夹盒置于同一个水槽中解冻，则解冻时间可能会延长。或者，您也可以使用以下选项解冻试剂。

方法	解冻时间	稳定时限
置于室温中 (19°C 到 25°C)	5 小时	最长 24 个小时
置于 2°C 到 8°C 冷却温度下	18 个小时	最长 72 个小时

- 3 将夹盒翻转 5 次以混匀试剂。
- 4 从夹盒底部检查大槽，确保试剂已解冻且槽中无冰晶。
- 5 在工作台上轻敲夹盒以减少气泡。

准备流动槽

- 1 从 2°C 到 8°C 的存储环境中取出新的流动槽包装。
- 2 将未开封的流动槽包装置于室温下 30 分钟。



注意

请避免重复冷却和预热流动槽。

- 3 从箔纸包装中取出流动槽容器。
- 4 戴上一副新的无粉手套。
- 5 夹住流动槽的塑料盒，将它从容器中取出。

图 9 取出流动槽



- 6 使用无绒酒精棉清洁流动槽的玻璃表面。
- 7 用无绒抹布擦干。擦拭黑色的流动槽垫片周边时要非常小心。
- 8 检查流动槽端口有无阻塞。确保垫片安放妥当。

制备测序文库

变性和稀释文库

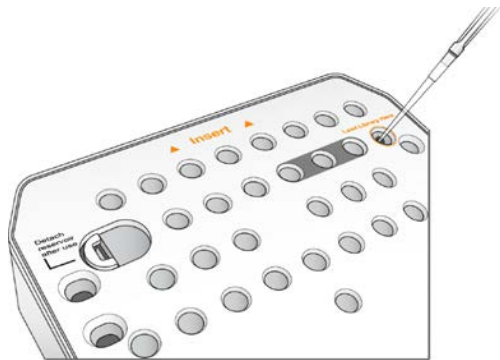
在将文库装入试剂夹盒之前，需要稀释文库并使其变性，然后添加可选的 PhiX 对照品。有关详细信息，请参见《MiniSeq 系统变性和稀释文库指南》（文档号 1000000002697）。

MiniSeq 系统的装入剂量为 500 微升。标准试剂盒和快速试剂盒的装入浓度分别为 1.4 皮摩尔和 1.6 皮摩尔。在具体操作时，装入浓度会因文库制备和定量方法而异。

将文库装入试剂夹盒

- 1 使用无尘棉巾纸将标有 **Load Library Here**（在此处装入文库）的槽 **16** 铝箔口擦拭干净。
- 2 使用干净的 1 毫升移液器吸头刺穿铝箔口。
- 3 将制备好的 500 微升 1.4 或 1.6 皮摩尔的文库加到槽 **16** 中。配发文库时，避免碰到铝箔口。

图 10 装入文库



设置测序运行

运行设置步骤因系统配置而异：

- ▶ **独立配置** — 系统会提示用户在控制软件的“Run Setup（运行设置）”屏幕中定义运行参数。
- ▶ **Local Run Manager 配置** — 从 Local Run Manager 中预定义的运行列表中进行选择。如果“System Settings（系统设置）”下启用了“User Management（用户管理）”，则需要提供登录信息。“User Management（用户管理）”默认处于禁用状态。

设置运行（手动配置）

- 1 在“Home（主页）”屏幕中，选择 **Sequence（测序）**。
“Sequence（测序）”命令会排空上次运行剩余的耗材，然后打开一系列运行设置屏幕。
- 2 在“Run Mode（运行模式）”屏幕中，选择 **Manual（手动）**。
- 3 **可选** — 选择 **Use BaseSpace Sequence Hub（使用 BaseSpace Sequence Hub）**。选择运行监控和存储或仅运行监控。启用此选项后，需要登录 BaseSpace Sequence Hub 并连接互联网。

输入运行参数

- 1 输入您偏好的运行名称。
- 2 **[可选]** 输入您偏好的文库 ID。
- 3 选择片段类型：**Single read（单片段）** 或 **Paired end（双末端）**。
- 4 输入测序运行中每个片段的循环次数。
 - ▶ **片段 1** — 输入不超过 151 次循环的值。
 - ▶ **标签 1** — 为标签 1 (i7) 引物输入不超过 10 次循环。
 - ▶ **标签 2** — 为标签 2 (i5) 引物输入不超过 10 次循环。

- ▶ **片段 2** — 输入不超过 151 次循环的值。此值通常等于片段 1 的循环次数。控制软件将按照以下标准确认指定循环的次数：
 - ▶ 根据为运行装入的试剂夹盒，总循环次数不超过允许的最大循环次数。
 - ▶ 片段 1 的循环次数大于生成模板所需的 6 次循环。
 - ▶ 标签片段循环不超过片段 1 和片段 2 的循环次数。

**注意**

请务必为您正在测序的文库指定相应的标签片段循环次数。有关详细信息，请参见文库制备文档。

- 5 **[可选]** 如果您使用的是自定义引物，请选中所使用的引物对应的复选框。
 - ▶ **片段 1** — 片段 1 的自定义引物。
 - ▶ **标签 1** — 标签 1 的自定义引物。
 - ▶ **标签 2** — 标签 2 的自定义引物。
 - ▶ **片段 2** — 片段 2 的自定义引物。
- 6 **[可选]** 更改当前运行的设置。
 - ▶ **Purge consumables for this run (清除此运行的耗材)** — 将设置更改为在当前运行完毕后自动清除耗材。
 - ▶ **Output folder (输出文件夹)** — 更改当前运行的输出文件夹位置。选择 **Browse (浏览)** 导航到文件夹位置。
- 7 选择 **Next (下一步)**。

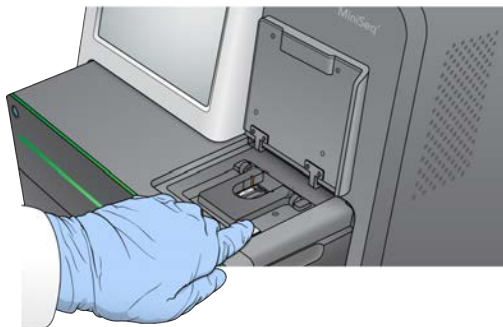
**注意**

切勿在自动检查或测序运行期间打开试剂仓门或流动槽仓门。

装入流动槽

- 1 打开流动槽仓门。
- 2 按下流动槽锁右侧的开锁按钮。

图 11 打开流动槽锁



- 3 如果里面有上次运行用过的流动槽，请将其取出。
- 4 确保流动槽台是干净的。如果有残留物，请用酒精棉清洁流动槽台。
- 5 将流动槽沿着对准插销放在流动槽台上。

图 12 将流动槽放在流动槽台上



- 6 关闭流动槽锁，锁住流动槽。

图 13 关闭流动槽锁



- 7 关闭流动槽仓门。

装入试剂夹盒

- 1 打开试剂仓门。
- 2 如果里面有用过的试剂夹盒，请将其取出。

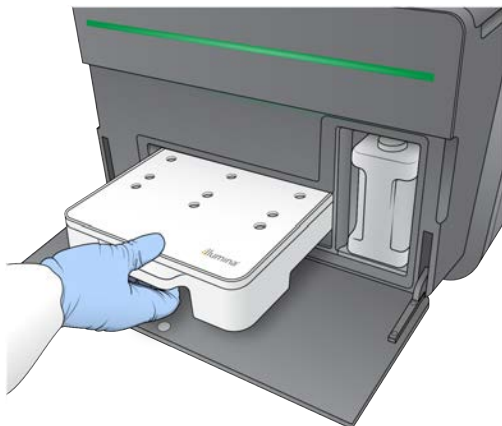


注意

为了方便您安全处置含有甲酰胺的废试剂，位置 9 处的槽是可以取下来的。请参见从位置 9 处取下用过的槽（第 23 页）。

- 3 将试剂夹盒滑入试剂仓，直至夹盒停下。

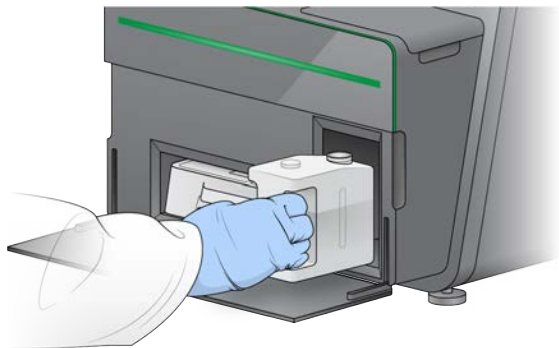
图 14 装入试剂夹盒



清空废试剂瓶

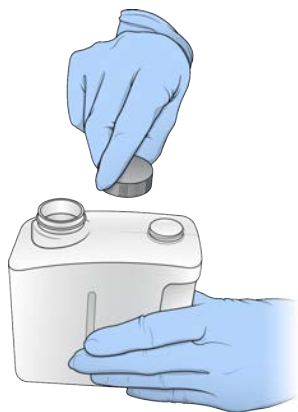
- 1 从仓中取出废试剂瓶。

图 15 取出废试剂瓶



- 2 为了避免在取出废试剂瓶时有液体洒出，请用螺纹帽密封瓶口。

图 16 密封废试剂瓶



- 3 按照适用的标准丢弃溶液。



警告

这组试剂含有潜在危险化学品。吸入、摄取、皮肤接触和眼睛接触都会对身体造成伤害。请穿戴防护装备，包括适合的护目用具、手套和实验室工作服以避免伤害。将废试剂作为化学废物处理，并根据适用的区域、国家和当地法律及法规丢弃。有关环境、健康和安全的更多信息，请参见 support.illumina.com/sds.html 中的 SDS。

- 4 取下螺纹帽，将清空的废试剂瓶滑入仓体，直至停下。
- 5 关闭仓门，并选择 Next（下一步）。

确认运行参数

- 1 确认运行参数。

控制软件会按照以下标准确认指定循环的次数：

- ▶ 根据为运行装入的试剂夹盒，总循环次数不超过允许的最大循环次数。
- ▶ 片段 1 的循环次数大于生成模板所需的 6 次循环。
- ▶ 标签片段循环不超过片段 1 和片段 2 的循环次数。

**注意**

请务必为您正在测序的文库指定相应的标签片段循环次数。有关详细信息，请参见文库制备文档。

- 2 **[可选]** 选择 **Edit (编辑)** 更改运行参数。完成后，选择 **Save (保存)**。
 - ▶ **Run parameters (运行参数)** – 更改片段类型或每片段循环次数。
 - ▶ **Custom primers (自定义引物)** – 更改自定义引物设置。
- 3 选择 **Next (下一步)**。

**注意**

切勿在自动检查或测序运行期间打开试剂仓门或流动槽仓门。

查看运行前检查

- 1 查看自动检查结果。
 - ▶ 要停止正在进行的检查，请选择 **Cancel (取消)**。
 - ▶ 如有任何项目未通过，则需要先执行一项操作后才能继续。请参见 [自动检查错误 \(第 32 页\)](#)。
 - ▶ 要重新启动检查，请选择 **Retry (重试)**。检查会从第一处未完成检查或检查失败的地方继续。
- 2 要启动运行，请从下列选项中进行选择。
 - ▶ 如果系统未配置为在成功完成检查后自动启动，请选择 **Start (启动)**。
 - ▶ 如果系统已配置为在成功完成检查后自动启动，则测序运行会自动开始，无需您介入。但是，如果检查期间发生任何错误，则运行将无法自动开始。

设置运行 (Local Run Manager 配置)

- 1 在“Home (主页)”屏幕中，选择 **Sequence (测序)**。
“Sequence (测序)”命令会排空上次运行剩余的耗材，然后打开一系列运行设置屏幕。
- 2 在“Run Setup (运行设置)”屏幕中，选择 **Local Run Manager**。
- 3 **可选** – 选择 **Use BaseSpace Sequence Hub (使用 BaseSpace Sequence Hub)**。选择运行监控和存储或仅运行监控。启用此选项后，需要登录 BaseSpace 并连接到 Internet。

登录 Local Run Manager

- 1 输入您的用户名和密码。
Local Run Manager 的用户管理关闭时不需要提供登录凭据。
- 2 选择 **Next (下一步)**。

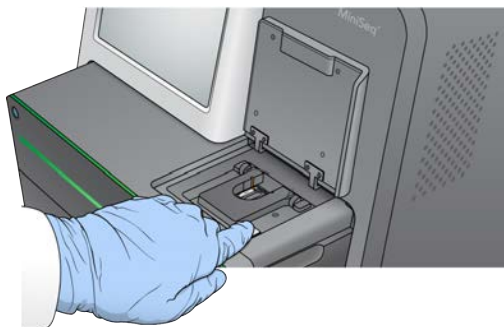
选择可用运行

- 1 从可用的运行列表选择一个运行名称。
使用向上箭头和向下箭头滚动浏览列表，或在“Search (搜索)”字段中输入运行名称。
- 2 选择 **Next (下一步)**。

装入流动槽

- 1 打开流动槽仓门。
- 2 按下流动槽锁右侧的开锁按钮。

图 17 打开流动槽锁



- 3 如果里面有上次运行用过的流动槽，请将其取出。
- 4 确保流动槽台是干净的。如果有残留物，请用酒精棉清洁流动槽台。
- 5 将流动槽沿着对准插销放在流动槽台上。

图 18 将流动槽放在流动槽台上



- 6 关闭流动槽锁，锁住流动槽。

图 19 关闭流动槽锁



- 7 关闭流动槽仓门。

装入试剂夹盒

- 1 打开试剂仓门。
- 2 如果里面有用过的试剂夹盒，请将其取出。

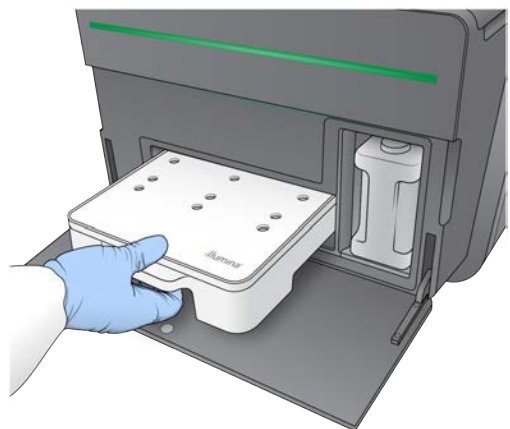


注意

为了方便您安全处置含有甲酰胺的废试剂，位置 9 处的槽是可以取下来的。请参见从位置 9 处取下用过的槽（第 23 页）。

- 3 将试剂夹盒滑入试剂仓，直至夹盒停下。

图 20 装入试剂夹盒

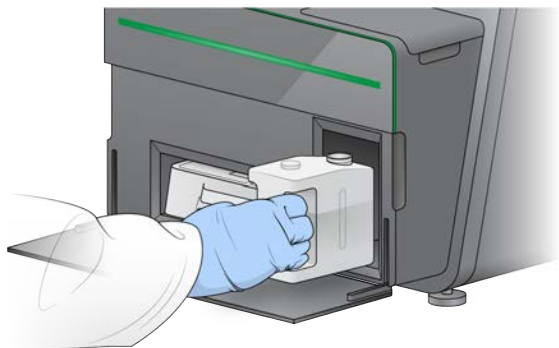


- 4 从“Recipe（配方）”下拉列表中选择配方。列表中只会列出兼容的配方。

清空废试剂瓶

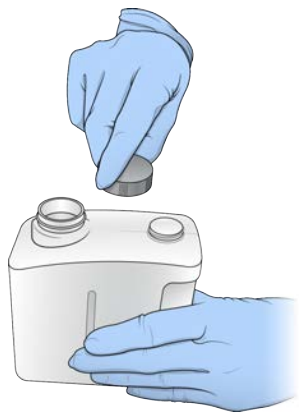
- 1 从仓中取出废试剂瓶。

图 21 取出废试剂瓶



- 2 为了避免在取出废试剂瓶时有液体洒出，请用螺纹帽密封瓶口。

图 22 密封废试剂瓶



- 3 按照适用的标准丢弃溶液。

**警告**

这组试剂含有潜在危险化学品。吸入、摄取、皮肤接触和眼睛接触都会对身体造成伤害。请穿戴防护装备，包括适合的护目用具、手套和实验室工作服以避免伤害。将废试剂作为化学废物处理，并根据适用的区域、国家和当地法律及法规丢弃。有关环境、健康和安全的更多信息，请参见 support.illumina.com/sds.html 中的 SDS。

- 4 取下螺纹帽，将清空的废试剂瓶滑入仓体，直至停下。
- 5 关闭仓门，并选择 **Next (下一步)**。

确认运行参数

- 1 确认运行参数。

控制软件会按照以下标准确认指定循环的次数：

- ▶ 根据为运行装入的试剂夹盒，总循环次数不超过允许的最大循环次数。
- ▶ 片段 1 的循环次数大于生成模板所需的 6 次循环。
- ▶ 标签片段循环不超过片段 1 和片段 2 的循环次数。

**注意**

请务必为您正在测序的文库指定相应的标签片段循环次数。有关详细信息，请参见文库制备文档。

- 2 **[可选]** 选择 **Edit (编辑)** 更改运行参数。完成后，选择 **Save (保存)**。
 - ▶ **Run parameters (运行参数)** — 更改片段类型或每片段循环次数。
 - ▶ **Custom primers (自定义引物)** — 更改自定义引物设置。
- 3 选择 **Next (下一步)**。

**注意**

切勿在自动检查或测序运行期间打开试剂仓门或流动槽仓门。

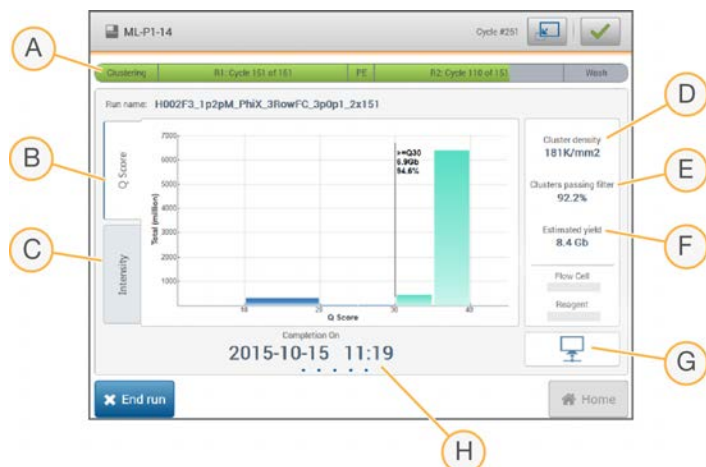
查看运行前检查

- 1 查看自动检查结果。
 - ▶ 要停止正在进行的检查，请选择 **Cancel (取消)**。
 - ▶ 如有任何项目未通过，则需要先执行一项操作后才能继续。请参见 [自动检查错误 \(第 32 页\)](#)。
 - ▶ 要重新启动检查，请选择 **Retry (重试)**。检查会从第一处未完成检查或检查失败的地方继续。
- 2 要启动运行，请从下列选项中进行选择。
 - ▶ 如果系统未配置为在成功完成检查后自动启动，请选择 **Start (启动)**。
 - ▶ 如果系统已配置为在成功完成检查后自动启动，则测序运行会自动开始，无需您介入。但是，如果检查期间发生任何错误，则运行将无法自动开始。

监控运行进度

- 1 监控运行进度、强度和分值，这些指标会显示在屏幕上。

图 23 测序运行进度和指标



- A Run progress (运行进度) — 显示当前步骤和为每个片段完成的循环次数。进度条与每个步骤的运行进度不成比例。
- B Q-Score — 显示质量分值 (Q-score) 的分布。请参见质量评分 (第 41 页)。
- C Intensity (强度) — 显示每个小区的第 90 个百分点的簇强度值。图的颜色表示每个碱基：红色为 A，绿色为 C，蓝色为 G，黑色为 T。
- D Cluster density (簇密度) (K/mm^2) — 显示为运行检测到的簇数。
- E Clusters passing filter (簇通过过滤) (%) — 显示簇通过过滤的百分比。请参见簇通过过滤 (第 41 页)。
- F Estimated yield (估计的产量) (Gb) — 显示为运行预计的碱基数。
- G Data transfer status (数据传输状态) — 根据分析配置显示数据传输的状态。
- H Time to completion (完成时间) — 显示运行完成的日期和时间 (yyyy-mm-dd hh:mm)。



注意

选择“Home (主页)”之后，无法再返回查看运行指标。不过，您可以在使用了 Sequencing Analysis Viewer 或 Local Run Manager 的联网计算机上，通过 BaseSpace 查看运行指标。













出现运行指标的循环

运行指标会在运行的不同时间点显示。

- ▶ 簇生成步骤期间不显示指标。
- ▶ 前 5 次循环会保留，用于生成模板。
- ▶ 在第 6 次循环时会显示原始簇密度和第 1 次循环的强度。
- ▶ 第 25 次循环后会显示簇通过过滤、产量和质量分值。

数据传输状态

根据所选的分析配置，在运行期间，屏幕上会显示相应的图标来指示连接状态。

状态	BaseSpace	Local Run Manager	独立
已连接			
正在传输数据			
连接断开			
已禁用			

屏幕上可能会显示多个图标。例如，如果运行数据正传输到 BaseSpace 和一个额外的输出文件夹位置，则屏幕上会显示一个 BaseSpace 图标和一个独立图标。

Universal Copy Service

MiniSeq 系统软件套装包括 Universal Copy Service。当 RTA 生成文件时，该服务会将文件复制到指定的输出文件夹位置。

如果数据传输在运行期间中断，数据会临时存储在仪器计算机上。等连接恢复后，系统会在运行期间继续自动传输数据。如果直到运行结束前连接仍未恢复，请手动将数据移到首选位置。

传输到 BaseSpace

Universal Copy Service 会将运行数据传输到 BaseSpace。这些数据会从 Universal Copy Service 源源不断地传送到 BaseSpace。

如果您为运行数据指定了额外的位置，则无论 Universal Copy Service 为何状态，数据都会传输到该位置。

运行后自动清洗

测序运行完成后，软件会启动运行后自动清洗（使用清洗液和试剂夹盒中提供的 NaOCl）。

运行后自动清洗大约需要 60 分钟。清洗完成后，“Home（主页）”按钮将变为可用。在清洗期间，测序结果仍会显示在屏幕上。

清洗后

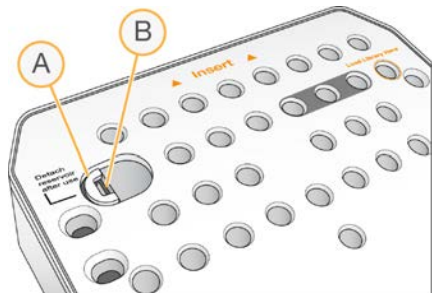
清洗后，吸管仍保持在向下位置，避免空气进入系统。在下次运行之前，请保持夹盒的位置不变。

从位置 9 处取下用过的槽

试剂夹盒位置 9 处的槽中含有甲酰胺。在丢弃使用过的试剂夹盒之前，您可以先将该槽从位置 9 处取下以便单独丢弃。

- 1 戴上手套，按下位置 9 处的白色分离薄片，断开 3 处连接点。

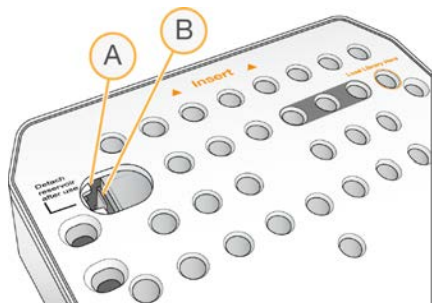
图 24 位置 9 处的分离薄片



- A 完全显示的分离薄片
- B 槽夹

- 2 将分离薄片滑向夹盒的最左端，以使其滑到夹盒盖下方。

图 25 移开分离薄片，露出槽夹



- A 位于夹盒盖下方的分离薄片
- B 槽夹

- 3 将透明塑料槽夹向下按并往右推。即可将槽从试剂夹盒下的位置中取出。
- 4 按照适用的标准处置槽。



警告

这组试剂含有潜在危险化学品。吸入、摄取、皮肤接触和眼睛接触都会对身体造成伤害。请穿戴防护装备，包括适合的护目用具、手套和实验室工作服以避免伤害。将废试剂作为化学废物处理，并根据适用的区域、国家和当地法律及法规丢弃。有关环境、健康和安全的更多信息，请参见 support.illumina.com/sds.html 中的 SDS。

第 4 章 维护

简介	25
执行手动仪器清洗	25
软件更新	28

简介

维护程序包括手动清洗仪器以及在有更新时更新系统软件。不需要进行任何其他定期维护。

- ▶ **仪器清洗** — 在每次测序运行后自动执行运行后清洗，有助于维护仪器性能。但在特定情况下，需要对仪器执行手动清洗。请参见 [执行手动仪器清洗](#)（第 25 页）。
- ▶ **软件更新** — 当系统软件套装推出新版本时，您可以通过连接到 BaseSpace 自动更新软件，也可以从 Illumina 网站下载安装程序来手动更新软件。请参见 [软件更新](#)（第 28 页）。

预防性维护

Illumina 建议您每年安排一次预防性维护服务。如果您未签订服务合同，请联系您的区域客户经理或 Illumina 技术支持部门安排收费的预防性维护服务。

执行手动仪器清洗

手动仪器清洗选项包括“Quick Wash（快速清洗）”和“Manual Post-Run Wash（运行后手动清洗）”。

清洗类型	描述
快速清洗 持续时间：20 分钟	仪器闲置或关机后每 7 天需要快速清洗一次。 此清洗使用用户自备的实验室级用水和 Tween 20 混合而成的清洗液冲洗系统。
运行后手动清洗 持续时间：90 分钟	在未执行运行后自动清洗的情况下（例如，提前结束了运行并将流动槽保留到之后再次杂化时使用），需要执行运行后手动清洗。 此清洗会使用用户自备的 0.12% 的次氯酸钠以及由实验室级用水和 Tween 20 混合而成的清洗液冲洗系统。



注意

务必使用过去 24 小时内制备的新鲜 NaOCl 稀释液。如果您制作的量超出了 1 毫升，请将剩余的稀释液存储在 2°C 到 8°C 的温度下，以在接下来的 24 小时内使用。否则，请倒掉剩余的 NaOCl 稀释液。

手动仪器清洗需要使用随仪器提供的清洗夹盒和清洗流动槽。或者，您也可以使用用过的流动槽进行清洗。

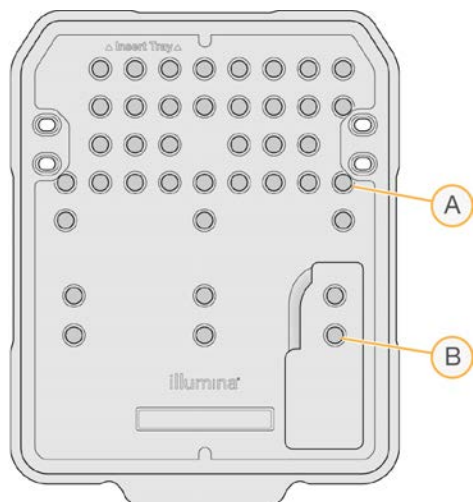
图 26 清洗夹盒



运行后手动清洗的准备工作

- 1 混合以下液体以制成 0.12% 的 NaOCl。
 - ▶ 5% NaOCl (31 微升)
 - ▶ 实验室级用水 (1269 微升)
- 2 在清洗夹盒中添加 1.3 毫升的 0.12% NaOCl。
正确的槽位于预先注入试剂的夹盒上的位置 31。

图 27 NaOCl 和清洗液的对位位置



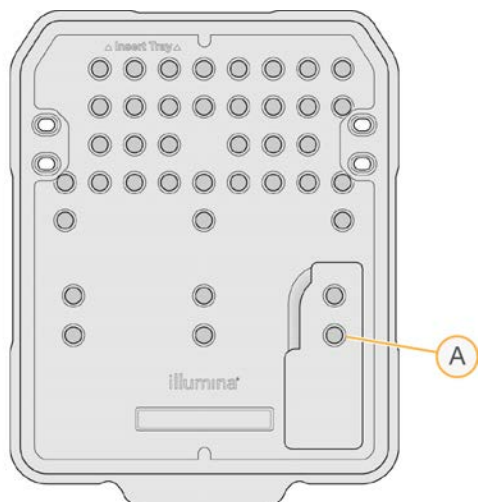
- A 0.12% NaOCl
- B 清洗液

- 3 混合以下容量的液体以制成 0.05% Tween 20 清洗液：
 - ▶ 100% Tween 20 (40 微升)
 - ▶ 实验室级用水 (80 毫升)
- 4 在清洗夹盒内加入 80 毫升的清洗液。
正确的槽位于预先注入试剂的夹盒上的位置 40。
- 5 从“Home (主页)”屏幕中，依次选择 Perform wash (执行清洗) 和 Manual post-run wash (运行后手动清洗)。

快速清洗的准备工作

- 1 混合以下容量的液体以制成 0.05% Tween 20 清洗液：
 - ▶ 100% Tween 20 (20 微升)
 - ▶ 实验室级用水 (40 毫升)
- 2 在清洗夹盒内加入 40 毫升的清洗液。
正确的槽位于预先注入试剂的夹盒上的位置 40。

图 28 清洗液的位置



A 清洗液

- 3 从“Home（主页）”屏幕中，依次选择 Perform wash（执行清洗）和 Quick Wash（快速清洗）。

装入清洗流动槽和清洗夹盒

- 1 装入清洗流动槽。关闭流动槽夹和流动槽门。



注意

或者，您也可以装入用过的流动槽。

- 2 如果里面有上次运行使用过的试剂夹盒，请将其取出。
- 3 装入准备好的清洗夹盒。
- 4 取出废试剂瓶并根据适用标准处置溶液。



警告

这组试剂含有潜在危险化学品。吸入、摄取、皮肤接触和眼睛接触都会对身体造成伤害。请穿戴防护装备，包括适合的护目用具、手套和实验室工作服以避免伤害。将废试剂作为化学废物处理，并根据适用的区域、国家和当地法律及法规丢弃。有关环境、健康和安全的更多信息，请参见 support.illumina.com/sds.html 中的 SDS。

- 5 将清空的废试剂瓶滑入仓体，直至停下。
- 6 关闭试剂仓门。
- 7 选择 Next（下一步）。

启动清洗

- 1 检查完成后，选择 Start（开始）。
- 2 清洗完成后，请选择 Home（主页）。

清洗后

清洗后，吸管仍保持在向下位置，避免空气进入系统。在下次运行之前，请保持夹盒的位置不变。

软件更新

软件更新打包成一个名为“System Suite”的软件包，其中包含下列软件：

- ▶ MiniSeq Control Software
- ▶ MiniSeq 配方
- ▶ RTA2
- ▶ Local Run Manager
- ▶ MiniSeq Service Software
- ▶ Universal Copy Service

Illumina 网站上的 MiniSeq 系统支持页面中提供了软件的发行说明。

您可以使用互联网连接自动安装软件更新，也可以从网络或 USB 位置手动安装软件更新。

- ▶ **Automatic updates (自动更新)** — 如果仪器已连接到可访问互联网的网络，则当有更新可用时，“Home (主页)” 屏幕上的“Manage Instrument (管理仪器)” 按钮上会显示警报图标 。
- ▶ **Manual updates (手动更新)** — 从 Illumina 网站上的 [MiniSeq 系统支持页面](#) 下载 System Suite 安装程序。



注意

如未等安装完成就取消更新，则更新会停止在当时所处的安装进度。在取消之前所做的任何更改都不会卸载或恢复到上一个版本。

自动软件更新

- 1 选择 **Manage Instrument (管理仪器)**。
- 2 选择 **Software Update (软件更新)**。
- 3 选择 **Install the update already downloaded from BaseSpace (安装已从 BaseSpace 下载的更新)**。
- 4 选择 **Update (更新)** 以开始更新。一个对话框即会打开让您确认命令。
- 5 按照安装向导中的提示完成更新：
 - a 接受许可协议。
 - b 查看更新中包含的软件列表。

更新完成后，控制软件会自动重新启动。



注意

如果包含固件更新，则需要在更新固件后自动重新启动系统。

手动软件更新

- 1 从 Illumina 网站下载 System Suite 安装程序，然后将其保存到列入白名单的网络位置。Illumina 建议保存至 D:\Illumina 或 C:\Illumina。或者，将软件安装文件复制到便携式 USB 驱动器。
- 2 选择 **Manage Instrument (管理仪器)**。
- 3 选择 **Software Update (软件更新)**。
- 4 选择 **Manually install the update from the following location (从以下位置手动安装更新)**。
- 5 选择 **Browse (浏览)** 导航到软件安装文件的位置，然后选择 **Update (更新)**。

6 按照安装向导中的提示完成更新：

- a 接受许可协议。
- b 查看更新中包含的软件列表。

更新完成后，控制软件会自动重新启动。



注意

如果包含固件更新，则需要在更新固件后自动重新启动系统。

快速试剂盒软件要求

快速试剂盒与 MiniSeq 系统搭配使用时需要 MiniSeq Control Software 2.1 或更高版本。管理员需要执行从 v2.0 到 v2.1 的更新。安装 MiniSeq Control Software v2.0 或更高版本需要 Windows 10。

附录 A 故障诊断

故障诊断文件	31
自动检查错误	32
RTA 错误	33
再次杂化工作流程	33
系统检查	35
网络配置设置	37
自定义基因组	38
关闭仪器	38

故障诊断文件

关键文件	文件夹	描述
运行信息文件 (RunInfo.xml)	根文件夹	包含以下信息： · 运行名称 · 运行中的循环次数 · 每个片段中的循环次数 · 片段是否为标签片段 · 流动槽上测绘带和小区的数目
运行参数文件 (RunParameters.xml)	根文件夹	包含有关运行参数和运行组件的信息。这些信息包括 RFID、序列号、批次号和到期日期。
RTA 配置文件 (RTAConfiguration.xml)	Data \Intensities	包含运行的 RTA 配置设置。 RTAConfiguration.xml 文件创建于运行开始时。
InterOp 文件 (*.bin)	InterOp	用于 Sequencing Analysis Viewer 的二进制报告文件。 InterOp 文件会在整个运行期间持续更新。
日志文件	Logs	日志文件描述仪器为每次循环执行的每个步骤，并列出于运行的软件和固件版本。名为 [仪器名称]_CurrentHardware.csv 的文件会列出仪器组件的序列号。
错误日志文件 (*ErrorLog*.txt)	RTALogs	RTA 错误日志。 每当发生错误时，都会更新错误日志文件。
全局日志文件 (*GlobalLog*.tsv)	RTALogs	所有 RTA 事件的日志。 全局日志文件会在整个运行期间持续更新。
泳道日志文件 (*LaneLog*.txt)	RTALogs	记录 RTA 处理事件。 泳道日志文件会在整个运行期间持续更新。

故障诊断资源

如有技术问题，请访问 Illumina 网站上的 MiniSeq 系统支持页面。通过支持页面可以访问文档、下载内容和常见问题解答。

登录您的 MyIllumina 帐户，查看支持公告。

如有运行质量或性能方面的问题，请与 Illumina 技术支持部门联系。请参见[技术协助（第 48 页）](#)。

请将 BaseSpace 中运行摘要的链接共享给 Illumina 技术支持部门，以便他们进行故障诊断。

处理状态

MiniSeq Control Software 会列出系统临时文件夹中至少 3 个运行的状态。从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **Process status（处理状态）**。

对于每个运行名称，系统列出了下列组件的状态：

- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** — 基于 BCL 文件的处理

- ▶ **Local Run Manager** — 如果为运行使用了 Local Run Manager
- ▶ **文件复制** — 基于使用 Run Copy Service 的文件传输
- ▶ **BaseSpace** — 如果为运行使用了 BaseSpace

测序存档文件夹

对于仪器上执行的每次运行，MiniSeq Control Software 均将运行摘要文件保存在系统计算机上的 D:\Illumina\MiniSeq Sequencing Archive 下。

在此文件夹中，仪器上执行的每次运行都会有一个相应的子文件夹，其中包含以下文件：

- ▶ **RunCompletionStatus.xml** — 包含完成状态、运行文件夹名称、已计划和执行的循环次数、簇密度、簇通过过滤和预计的运行产量。
- ▶ **RunParameters.xml** — 包含有关运行参数和运行组件的信息，这些信息包括 RFID、序列号、批次号和到期日期。

自动检查错误

如果在自动运行前检查期间发生错误，请使用下列建议的措施予以解决。

如果运行前检查失败，则试剂夹盒 RFID 不会处于锁定状态，因此可以用于后续运行。但是，一旦封箔口被刺穿，系统就会锁定 RFID。

系统检查	建议采取的措施
仓门已关闭	确保仓门已关闭。
已装入耗材	耗材传感器未配准。确保每个耗材都已正确装入。 在运行设置屏幕上选择 Back (返回) 回到装入步骤，然后重复运行设置。
必备软件	软件的关键组件缺失。 执行手动软件更新以恢复所有软件组件。
仪器磁盘空间	仪器硬盘驱动器没有足够的磁盘空间用于执行运行。 清除仪器硬盘上的运行数据。
网络连接	与指定的输出文件夹位置之间的连接已中断。尽管检查标有网络连接，但系统仍会检查与服务器、外部硬盘驱动器或本地驱动器上指定的所有输出文件夹位置之间的连接。 检查与指定的输出文件夹位置之间的连接状态。
网络磁盘空间	指定的输出文件夹位置已满。尽管检查标有网络磁盘空间，但系统仍会检查服务器、外部硬盘驱动器或本地硬盘驱动器上指定的所有输出文件夹位置。 清理指定的输出文件夹位置的磁盘空间。
温度	建议采取的措施
温度升降	请联系 Illumina 技术支持部门。
温度传感器	请联系 Illumina 技术支持部门。
风扇	请联系 Illumina 技术支持部门。
成像系统	建议采取的措施
成像限制	请联系 Illumina 技术支持部门。
Z 轴步幅和停顿	请联系 Illumina 技术支持部门。
误码率	请联系 Illumina 技术支持部门。
流动槽配准	流动槽有可能未安装妥当。 · 在运行设置屏幕上选择 Back (返回) ，回到流动槽步骤。 · 卸载流动槽后再重新装回，确保安装妥当。

试剂供应	建议采取的措施
阀响应	请联系 Illumina 技术支持部门。
泵	请联系 Illumina 技术支持部门。

硬盘驱动器空间

根据使用以下运行参数的运行所生成的数据，仪器计算机硬盘驱动器大约可以保存 45 次运行：

- ▶ 对于包含 150 次循环的双末端测序运行，大约需要 5 到 6 GB 的空间。
- ▶ 当使用 Local Run Manager Resequencing 分析模块时，另需 10 GB 的空间用于存储分析文件。

每执行一次运行后，软件都会创建一个临时运行文件夹。写入到临时运行文件夹的文件会被复制到输出文件夹。因此，如果您在仪器硬盘驱动器上指定输出文件夹位置，则会向硬盘驱动器写入该运行的 2 个副本。软件会保存最新的 3 个临时运行文件夹。

在使用 Local Run Manager 软件执行分析时，默认情况下不会删除临时文件。保留策略从 Local Run Manager 的“System Settings（系统设置）”屏幕手动设置。

临时文件会越来越多，最终可能会占满硬盘驱动器空间。因此，建议您使用网络位置存储运行数据，并根据要执行的运行次数设置合适的 Local Run Manager 保留策略。

RTA 错误

要对 RTA 错误进行故障诊断，请先检查存储在 RTALogs 文件夹中的 RTA 错误日志。如果运行成功，则不会存在此文件。向 Illumina 技术支持部门报告问题时，请附上此错误日志。

错误处理

RTA2 会创建日志文件并将其写入 RTALogs 文件夹。错误记录在 *.tsv 文件格式的错误文件中。

在处理结束时，以下日志和错误文件会传送至最终输出目的地：

- ▶ *GlobalLog*.tsv 汇总重要运行事件。
- ▶ *LaneNLog*.tsv 列出处理事件。在 MiniSeq 流动槽上，N 始终为 1。
- ▶ *Error*.tsv 列出在运行期间发生的错误。
- ▶ *WarningLog*.tsv 列出在运行期间发生的警告。

再次杂化工作流程

如果前几次循环期间生成的指标表明强度低于 2500，则可能需要执行再次杂化运行。需注意的是，一些低多样性文库会显示低于 1000 的强度，这种情况是合理的，而且无法通过再次杂化解决。



注意

“End Run（结束运行）”命令不可逆。运行将无法恢复，运行的耗材无法重复使用，运行的测序数据也不会保存。

当您结束运行并保存流动槽时，软件会在运行结束前执行以下步骤：

- ▶ 将流动槽置于安全状态。
- ▶ 解锁流动槽 RFID，以供之后运行使用。
- ▶ 为流动槽分配再次杂化的到期日期。
- ▶ 为完成的循环写入运行日志。延迟属于正常现象。
- ▶ 跳过运行后自动清洗。

当您开始再次杂化运行时，软件会先执行下列步骤以执行运行：

- ▶ 根据唯一的运行名称创建运行文件夹。
- ▶ 确认流动槽的再次杂化日期未过期。
- ▶ 填装试剂。延迟属于正常现象。
- ▶ 跳过簇生成步骤。
- ▶ 取出先前的片段 1 引物。
- ▶ 再次杂化新的片段 1 引物。
- ▶ 根据指定的运行参数继续处理片段 1 及运行的剩余耗材。

结束运行以再次杂化的时间点

仅当您在下列时间点结束运行，之后才能进行再次杂化：

- ▶ **在第 5 次循环之后** — 模板配准之后即会显示强度，而模板配准需要执行头 5 次测序循环。虽然在第 1 次循环之后可安全地结束运行，但是仍建议在第 5 次循环之后再结束运行。切勿在簇生成期间结束运行。
- ▶ **片段 1 或标签 1 片段** — 在双末端再合成开始之前结束运行。双末端再合成开始之后，便无法保存流动槽供之后的再次杂化使用。

必需的耗材

无论之前运行是何时停止的，再次杂化运行均需要使用新的 MiniSeq 试剂夹盒。

结束当前运行

- 1 选择 **End Run (结束运行)**。当系统提示您确认命令时，请选择 **Yes (是)**。
- 2 当系统提示您保存流动槽时，请选择 **Yes (是)**。请注意再次杂化的到期日期。
- 3 取出已保存的流动槽，然后将其置于 2°C 到 8°C 的温度下，直到您准备好设置再次杂化运行。



注意

在 2°C 到 8°C 的环境下，流动槽最长可存储七天时间，前提是流动槽容器必须用螺纹帽封好。为确保获取最佳效果，请于三天之内再次杂化所保存的流动槽。

执行手动清洗

- 1 从“Home (主页)”屏幕中，选择 **Perform Wash (执行清洗)**。
- 2 从“Wash Selection (清洗选择)”屏幕中，选择 **Manual Post-Run Wash (运行后手动清洗)**。请参见 [执行手动仪器清洗 \(第 25 页\)](#)。



注意

如果您尚未从停止的运行中取出试剂夹盒，那么您可以将其用于手动清洗。否则，请使用清洗夹盒执行手动清洗。

在仪器上设置运行

- 1 准备一个新的试剂夹盒。
- 2 如果之前存储了保留的流动槽，将其恢复至室温（需要 15 至 30 分钟）。
- 3 清洁并装入保留的流动槽。
系统会将流动槽 RFID 读取为保存的流动槽，并确认有效的再次杂化日期。

- 4 取出废试剂瓶并妥善倒掉其中的溶液，然后再重新装入空的容器。
- 5 装入新试剂夹盒。
- 6 从“Run Setup（运行设置）”屏幕中，选择以下其中一个选项：
 - ▶ **Local Run Manager configuration（Local Run Manager 配置）** — 选择运行并确认运行参数。
 - ▶ **Manual configuration（手动配置）** — 输入运行名称并指定与原始运行相同的参数。
- 7 选择 **Next（下一步）** 以继续执行运行前检查并启动运行。

系统检查

正常操作或仪器维护不需要执行系统检查。但是，Illumina 技术支持代表可能会要求您执行系统检查以进行故障诊断。

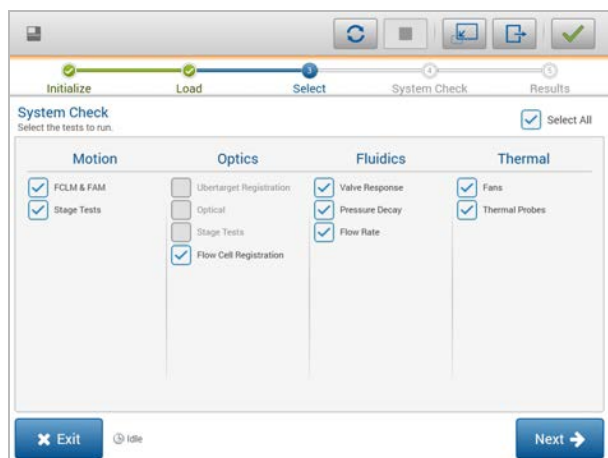


注意

如果到了应清洗仪器的时间，请在启动系统检查之前执行清洗。

启动系统检查会自动关闭控制软件并启动 MiniSeq Service Software。此服务软件会启动并打开至“Load（装入）”屏幕，该屏幕已配置为使用高级装入选项。

图 29 可用的系统检查

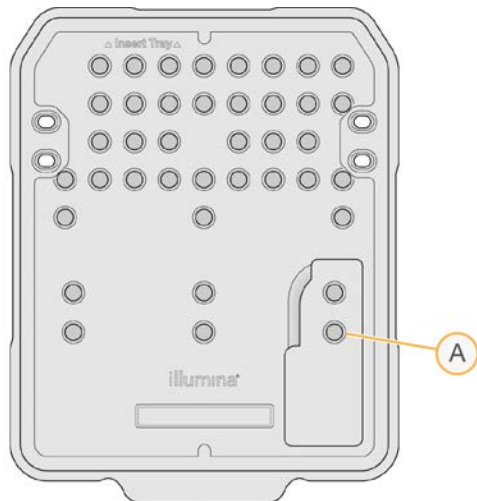


装入耗材后，“Select（选择）”屏幕将会打开，其中列出了可用的系统检查。“Select（选择）”屏幕上未启用的复选框表示需要 Illumina 现场代表协助的测试。

执行系统检查

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕，选择 **System Check（系统检查）**。当系统提示您关闭控制软件时，请选择 **Yes（是）**。
- 2 在清洗夹盒中加入 40 毫升去离子水。
正确的槽位于预先注入试剂的夹盒上的位置 40。

图 30 清洗液的位置



A 清洗液

- 3 如下所示装入耗材：
 - a 如果还没有在仪器上装入用过的流动槽，请装入一个。
 - b 清空废试剂瓶并放回到仪器。
 - c 装入清洗夹盒。
- 4 选择 **Load (装入)** 。
软件会将流动槽和清洗夹盒移动到位。
- 5 选择 **Next (下一步)** 。系统检查随即开始。
- 6 **[可选]** 系统检查完成后，选择检查名称旁的 **View (查看)** 可查看每项检查相关联的值。
- 7 选择 **Next (下一步)** 。
系统检查报告随即打开。
- 8 选择 **Save (保存)** 将报告保存为压缩文件。导航至网络位置以保存文件。
- 9 完成后，选择 **Exit (退出)** 。
- 10 当系统提示您关闭服务软件并重新启动控制软件时，请选择 **Yes (是)** 。
控制软件随即会自动重新启动。

运动检查

系统检查	描述
FCLM 和 FAM	检查 Flow Cell Load Mechanism (FCLM) 和 Fluidics Automation Module (FAM) 的增益和距离，以确认模块是否正常工作。
槽台测试	检查 XY 轴和 Z 轴的行程限制和性能。

光学检查

系统检查	描述
流动槽配准	测量流动槽在光学平面上的倾斜度、测试相机功能、测试成像模块并验证流动槽在正确成像位置上的配准情况。

射流检查

系统检查	描述
阀响应	检查阀和泵移动的准确性，并测试泵注射器的移动范围。
压力衰减	检查密封射流系统的泄漏率，由此确认流动槽是否正确安装在测序位置。
流速	检查气泡传感器的功能，该传感器用于检测试剂管路中是否存在空气。测量流速以检查是否有闭塞或泄漏。

散热情况检查

系统检查	描述
风扇	检查系统风扇的速度（单位为每分钟脉冲数，Pulse Per Minute，简称 PPM）以确认风扇是否正常运行。对于无法正常运行的风扇，系统将会返回一个负值。
热探针	检查每个热传感器的平均温度。对于无法正常运行的热传感器，系统将会返回一个负值。

网络配置设置

网络设置是在安装期间配置的。如果系统必须重新配置，您可以在“Network Configuration（网络配置）”屏幕上更改设置或重置设置。配置设置包括 IP 地址、域名服务器 (DNS) 地址和域名。



注意

您必须以 Windows 操作系统管理员用户身份登录才能更改这些设置。

设置网络配置

- 1 从“Manage Instrument（管理仪器）”屏幕中，选择 **System configuration（系统配置）**。
- 2 选择 **Network configuration（网络配置）**。
- 3 选择 **Obtain an IP address automatically（自动获取 IP 地址）** 以使用 DHCP 服务器获取 IP 地址。



注意

动态主机配置协议 (DHCP) 是一项标准网络协议，用于在 IP 网络上动态分配网络配置参数。

您也可以选择 **Use the following IP address（使用下列 IP 地址）**，按下列方式将仪器手动连接到另一台服务器。请联系网络管理员，以获取您的机构的特定地址。

- ▶ 输入 IP 地址。IP 地址是一串包含 4 个以点分隔的数字的字符，例如 168.62.20.37。
- ▶ 输入子网掩码，它是 IP 网络的细分。
- ▶ 输入默认网关，它是网络上用于连接互联网的路由器。

- 4 选择 **Obtain a DNS server address automatically（自动获取 DNS 服务器地址）**，将仪器连接到与该 IP 地址关联的域名服务器。

您也可以选择 **Use the following DNS server address (使用以下 DNS 服务器地址)**，按以下方式手动将仪器连接到域名服务器。

- ▶ 输入首选 DNS 地址。DNS 地址是用于将域名转换成 IP 地址的服务器名称。
- ▶ 输入备用 DNS 地址。如果首选 DNS 无法将特殊域名转换成 IP 地址，则需要使用备用 DNS。

5 选择 **Save (保存)**。

配置计算机的域



注意

在仪器计算机制造期间会向其分配仪器计算机名称。对该计算机名称的任何更改都可能会影响网络连接，因此需要由网络管理员执行更改。

1 按下列方式将仪器计算机连接到域或工作组：

- ▶ **对于已连接到互联网的仪器** — 选择 **Member of domain (域成员)**，然后输入您的机构与互联网连接关联的域名。



注意

若要更改域，需要提供管理员用户名和密码。

- ▶ **对于未连接到互联网的仪器** — 选择 **Member of work group (工作组成员)**，然后输入工作组名称。该工作组名称是您的机构所特有的。

2 选择 **Save (保存)**。

自定义基因组

您可以将自己的 FASTA 格式参考上载到仪器计算机。您可以上载数个单 FASTA 文件或一个多 FASTA 文件（建议），但只能选其一。

要使用某个自定义基因组文件对问题进行故障诊断，请确认满足以下要求。

- 1 确保文件扩展名为 *.fa 或 *.fasta，并且文件存储在该参考的专用文件夹中。
- 2 确保染色体名称不包含以下任一字符：

- ? () [] / \ = + < > ; " ' , * ^ | &

为获得最佳效果，请仅使用字母数字字符组成染色体名称。

关闭仪器

正常情况下不应关闭仪器。

- 1 选择 **Manage Instrument (管理仪器)**。
- 2 选择 **Shutdown options (关闭选项)**。
- 3 选择 **Shut Down (关闭)**。

该命令会安全地关闭软件和仪器电源。再次打开仪器前，请至少等待 60 秒。下次进行测序运行之前需要执行清洗。



注意

请勿搬迁仪器。不适当地移动仪器可能会影响光学校准并破坏数据完整性。如需搬迁仪器，请与 Illumina 代表联系。

附录 B Real-Time Analysis

Real-Time Analysis 概述	39
输入和输出文件	39
Real-Time Analysis 工作流程	39

Real-Time Analysis 概述

Real-Time Analysis 是在仪器计算机上运行的一款软件，它会从图像提取强度以执行碱基检出，然后为碱基检出分配质量分值。

MiniSeq 系统使用名为 RTA2 的 Real-Time Analysis 软件的实施。该系统控制软件与 RTA2 通过 Web HTTP 接口和共享内存文件进行通信。RTA2 一旦被终止，处理过程便无法恢复，并且运行数据也不会保存下来。

输入和输出文件

输入文件

Real-Time Analysis 软件需要以下输入数据才能执行处理：

- ▶ 包含在本地系统内存中的小区图像。
- ▶ RunInfo.xml，它在运行开始时自动生成，会指定运行名称、循环次数、片段是否带有标签，以及流动槽上的小区数量。

Real-Time Analysis 软件从控制软件接收有关 RunInfo.xml 的位置以及是否指定了可选输出文件夹方面的命令。

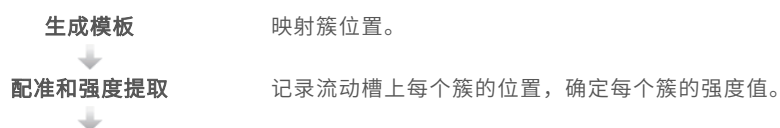
输出文件

每个通道的图像在内存中均作为小区传递。小区是流动槽上以相机的视野定义的小成像区域。软件根据这些图像以一组带有质量分值的碱基检出文件和过滤文件的形式生成输出。输出文件用于 BaseSpace 中或 Local Run Manager 分析模块执行的下游分析。

文件类型	描述
碱基检出文件	已分析的每个小区纳入针对每个泳道和每次循环累积的碱基检出 (*.bcl) 文件中。累积的碱基检出文件包含该泳道中每个簇的碱基检出以及相关的质量分值。
过滤文件	每个小区都会生成过滤信息，针对每个泳道累积到 1 个过滤 (*.filter) 文件中。过滤文件指定簇是否通过过滤。
簇位置文件	簇位置 (*.locs) 文件包含小区中每个簇的 X、Y 坐标。在生成模板期间，会针对每个泳道生成簇位置文件。
碱基检出标签文件	为保留原始小区信息，会针对每个泳道生成碱基检出标签 (*.bci) 文件。该标签文件包含与每个小区对应的一对值，即小区编号和该小区的簇数量。

RTA2 提供作为 InterOp 文件存储的运行质量实时指标。InterOp 文件为二进制输出，它包含小区、循环和片段级别指标，使用 Sequencing Analysis Viewer 软件查看实时指标时需要提供该输出。

Real-Time Analysis 工作流程



定相修正	修正定相和预定相的效果。
↓	
碱基检出	确定每个簇的碱基检出。
↓	
质量评分	为每个碱基检出分配质量分值。

生成模板

RTA 工作流程中的第一个步骤就是生成模板，在此步骤中，将使用 X 和 Y 坐标定义小区中每个簇的位置。生成模板需要用到运行的前 5 次循环产生的图像数据。小区的最后一个模板循环成像后，随即会生成模板。



注意

要在生成模板期间检测簇，头 5 次循环中必须至少有一个非 G 碱基。

模板用作配准和强度提取的后续步骤的参考。整个流动槽的簇位置将写入簇位置 (*.locs) 文件，每个泳道 1 个文件。

配准和强度提取

模块生成之后，就会开始配准和强度提取。

- ▶ 配准用于对照模板比针对对成像的每次后续循环生成的图像。
- ▶ 强度提取用于确定给定图像的模板中每个簇的强度值。

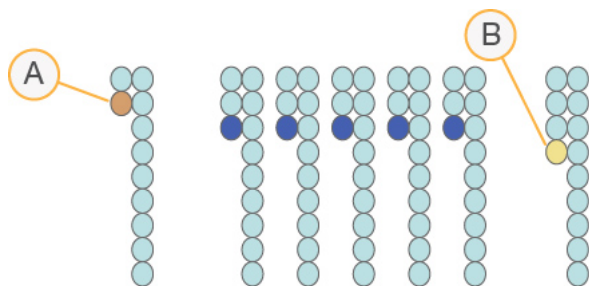
如果某次循环中有任何图像的配准失败，则在该循环中不会提取强度，并且该小区的所有碱基都会检出为 N。请使用 Sequencing Analysis Viewer 软件来识别配准失败的小区 and 循环。识别失败的配准很容易，“Imaging (成像)”选项卡上 P90 列中含有 0 的小区 and 循环就是。

定相修正

在测序反应期间，簇中的每个 DNA 链在每次循环中会扩展一个碱基。定相和预定相在 DNA 链与当前结合循环异相时发生。

- ▶ 当落后一个碱基时，便会发生定相。
- ▶ 当超前一个碱基时，便会发生预定相。

图 31 定相和预定相



- A 具有定相碱基的片段
- B 具有预定相碱基的片段

RTA2 会修正定相和预定相的效果，从而尽可能提高整个运行期间每次循环的数据质量。

碱基检出

碱基检出用于确定特定循环中给定小区的每个簇的碱基（A、C、G 或 T）。MiniSeq 系统使用双通道测序，因此只需要 2 个图像即可对 4 种 DNA 碱基的数据进行编码，一个图像来自红色通道，一个图像来自绿色通道。

两个图像相比之下提取的强度会产生 4 个不同的群体，每个群体对应于一种核苷酸。碱基检出流程决定了每个簇属于哪个群体。

图 32 簇强度展示图

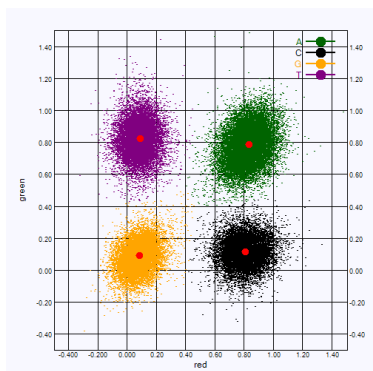


表 1 双通道测序的碱基检出

碱基	红色通道	绿色通道	结果
A	1 (开)	1 (开)	在红色和绿色通道中都显示强度的簇。
C	1 (开)	0 (关)	只在红色通道中显示强度的簇。
G	0 (关)	0 (关)	在已知位置上未显示强度的簇。
T	0 (关)	1 (开)	只在绿色通道中显示强度的簇。

簇通过过滤

在运行期间，RTA2 会过滤原始数据，删除任何不符合数据质量阈值的簇。

对于双通道分析，RTA2 使用基于群体的系统确定碱基检出的纯度。如果在前 25 次循环中，纯度值不可接受的碱基检出不超过 1 个，簇将通过过滤 (PF)。在后面的循环中，未通过过滤的簇不会检出碱基。

标签注意事项

针对标签片段的碱基检出过程与其他片段的碱基检出过程有所不同。

在前两次循环中的任一循环内，标签片段的开头必须至少有一个碱基不是 G。如果标签片段所检出的前两个碱基均为 G，则不会生成信号强度。前两次循环中的任一循环必须存在信号，这样才能保证文库拆分性能。

为提高文库拆分性能，请为每次循环选择至少一个通道中存在信号（最好是两个通道中都存在信号）的标签序列。遵循此准则可避免出现导致每次循环都只有 G 碱基的标签组合。

- ▶ 红色通道 — A 或 C
- ▶ 绿色通道 — A 或 T

此碱基检出过程可以保证分析低重样品时的准确性。

质量评分

质量分值（或 Q-score）是对碱基检出不正确概率的预测。Q-score 越高，表示碱基检出的质量越高，正确率也越高。

Q-score 是一种告知小错误概率的简单方法。Q(X) 代表质量分值，其中 X 是分值。下表显示了质量分值与错误概率之间的关系。

Q-Score Q(X)	错误概率
Q40	0.0001 (万分之一)
Q30	0.001 (千分之一)
Q20	0.01 (百分之一)
Q10	0.1 (十分之一)



注意

质量评分基于 Phred 算法的修改版本计算。

质量评分会计算每个碱基检出的一组预测因素，然后使用预测因素值在质量表中查找 Q-score。创建质量表的目的是根据特定的测序平台和化学反应版本配置为生成的运行提供最准确的质量预测。

确定 Q-score 之后，结果会记录在碱基检出文件中。

附录 C 输出文件

输出文件

测序输出文件	43
测序输出文件夹结构	44
分析输入文件要求	44

测序输出文件

文件类型	文件描述、位置和名称
碱基检出文件	每次循环结束后，针对每个小区的分析数据都会纳入到一个碱基检出文件中，并累积到一个文件中。累积的文件包含每个簇的碱基检出以及已编码的质量分值。 Data\Intensities\BaseCalls\L001 [循环].bcl.bgzf，其中 [循环] 代表循环次数（以 4 位数表示）。系统使用数据块 gzip 压缩方式来压缩碱基检出文件。
碱基检出标签文件	二进制标签文件以每个小区一对值的方式列出了原始小区信息，即小区编号和该小区的簇数量。 首次创建碱基检出文件时，会创建碱基检出标签文件。 Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[泳道].bci
簇位置文件	对于每个小区，每个簇对应的 X、Y 坐标会累积到一个簇位置文件中。簇位置文件是生成模板时创建的。 Data\Intensities\L001 s_[泳道].locs
过滤文件	过滤文件指定簇是否通过过滤。每个片段的过滤信息会累积到一个过滤文件中。 过滤文件在第 26 次循环时使用前 25 次循环的数据生成。 Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[泳道].filter
InterOp 文件	用于 Sequencing Analysis Viewer 的二进制报告文件。InterOp 文件会在整个运行期间持续更新。 InterOp 文件夹
RTA 配置文件	RTA 配置文件在运行开始时创建，列出了运行的设置。 [根文件夹], RTAConfiguration.xml
运行信息文件	列出运行名称、每个片段中的循环次数、片段是否为标签片段以及流动槽上测绘带和小区的数量。运行信息文件创建于运行开始时。 [根文件夹], RunInfo.xml

测序输出文件夹结构

控制软件会自动生成输出文件夹名称。

- 📁 Configs
- 📁 Data
 - 📁 Intensities
 - 📁 BaseCalls
 - 📁 L001 — 碱基检出文件，针对每次循环累积
 - 📁 L001 — 累积的 *.locs 文件
- 📁 Images
 - 📁 Focus
 - 📁 L001 — 聚焦图像
- 📁 InstrumentAnalyticsLogs — 描述仪器分析步骤的日志文件
- 📁 InterOp — Sequencing Analysis Viewer 使用的二进制文件
- 📁 Logs — 描述运行步骤的日志文件
- 📁 Recipe — 以试剂夹盒 ID 命名的运行特定配方文件
- 📁 RTALogs — 描述分析步骤的日志文件
- 📄 RTAComplete.xml
- 📄 RTAConfiguration.xml
- 📄 RunInfo.xml
- 📄 RunNotes.xml
- 📄 RunParameters.xml

分析输入文件要求

Local Run Manager 要求在测序运行期间生成以下文件，以便执行分析或对分析重新排队。有些分析模块需要提供其他输入文件才能执行分析。有关详细信息，请参见与您使用的分析模块相对应的工作流程指南。

文件名称/类型	描述
RTAComplete.txt	一种标记文件，表示 RTA 处理已完毕。此文件若存在，便会触发 Local Run Manager 对分析进行排队。
RunInfo.xml	包含概要运行信息，例如测序运行中片段和循环的数量，以及片段是否带标签。
碱基检出文件 (*.bcl)	包含每个小区中各个簇的碱基检出和已编码的质量分值，针对每次循环，累积在一个文件中。
过滤文件 (*.filter)	指定簇是否通过过滤。每个片段的过滤信息会累积到一个过滤文件中。
簇位置文件 (*.locs)	包含每个小区中各个簇对应的 X 坐标和 Y 坐标，累积到一个簇位置文件中

索引

B

BaseSpace 1
 传输图标 22
帮助, 技术 48
标签注意事项 41

C

参考基因组
 文件格式 6
 预装 6
 自定义基因组 38
测序工作流程 39
成像仓 2
纯度过滤 41
次氯酸钠, 清洗 26
簇通过过滤 41
簇位置
 生成模板 40
 文件 43
错误
 概率 41
错误和警告 4
 在输出文件中 33

D

dbSNP 数据库 6
电源按钮 3, 7
电源开关 7
定相 40

F

废试剂
 处理 16, 19, 27
分析
 软件 4
 输出文件 43
分析, 初级
 信号纯度 41
分析配置 13

G

高级装入选项 8
更新软件 28

工作流程

 标签注意事项 41
 测序 39
 次氯酸钠 26
 废试剂 16, 19
 分析配置 13
 高级装入选项 8
 试剂夹盒 11, 15, 18
 手动模式 13
 运行持续时间 11
 运行前检查 17, 20
 运行指标 21

故障诊断

 低质量指标 33
 联系选项 31
 特定于运行的文件 31
 系统检查 35
 硬盘驱动器空间 33
 运行前检查 32
关闭仪器 38
管理仪器
 关闭 38
过滤文件 43

H

耗材 4
 测序运行 9
 流动槽 5
 清洗耗材 25-26
 实验室级用水 10
 试剂夹盒 5
 仪器维护 9
 用户自备 9

I

InterOp 文件 31, 43

J

技术协助 48
甲酰胺, 位置 6 23
兼容性
 RFID 跟踪 4-5
 流动槽, 试剂夹盒 4
碱基检出
 标签注意事项 41
 双通道 41

碱基检出文件 43

K

客户支持 48

控制软件 4

L

Local Run Manager 4

locs 文件 43

流动槽

概述 5

类型 1

再次杂化 33

准备 12

流动槽仓 2

流动槽夹 2

M

miRbase 数据库 6

P

Phred 算法 41

培训 1

配置设置 37

片段长度 11

片段中的循环 11

Q

Q-score 41

强度 41

清除耗材 8

清洗

清洗组件 25

手动清洗 25

用户自备的耗材 25

自动 22

R

Real-Time Analysis 软件 1, 4

结果 43

RefGene 数据库 6

RFID 跟踪 4

RTA v2

概述 39

终止 39

RTA2

错误处理 33

RunInfo.xml 31, 43

日志文件

GlobalLog 33

LaneNLog 33

软件

初始化 7

分析 4

检查更新 8

配置设置 37

手动更新 28

图像分析, 碱基检出 4

仪器控制 4

运行持续时间 11

自动更新 28

S

Sequencing Analysis Viewer 11

生成模板 40

实验室级用水准则 10

试剂

套装 4

妥善处理 15, 18

试剂仓 2

试剂夹盒

槽 28 26

概述 5

制备 11

手动配置 13

输出文件 43

输出文件, 测序 43

数据传输

universal copy service 22

活动图标 22

数据库, 预装 6

双通道成像 41

T

通过过滤 (PF) 41

图标

错误和警告 4

状态 4

图像, 双通道测序 41

U

universal copy service 22

W

维护, 预防性 25
文档 1, 48
文件夹位置 13

X

系统检查 35
系统用户名和密码 7

Y

仪器
 电源按钮 3
 配置设置 37
 启动 7
仪器清洗 25
仪器维护
 耗材 9
引物再次杂化 33
硬盘驱动器空间 33
用户名和密码 7
用户自备的耗材 9
预定相 40
预防性维护 25
运行参数
 手动模式 13
运行持续时间 11
运行后清洗 22
运行前检查 17, 20
运行前检查错误 32
运行设置, 高级选项 8
运行指标 21

Z

再次杂化, 片段 1 33
支持页面 1
指标
 簇密度循环 21
 碱基检出 41
 强度循环 21
质量表 41
状态警报 4

状态栏 2
组件
 成像仓 2
 流动槽仓 2
 试剂仓 2
 状态栏 2

技术协助

如需技术协助，请与 Illumina 技术支持部门联系。

网站：www.illumina.com
电子邮件：techsupport@illumina.com

Illumina 客户支持部门电话号码

地区	免费电话	区域电话
北美	1.800.809.4566	
爱尔兰	+353 1800936608	+353 016950506
奥地利	+43 800006249	+43 19286540
澳大利亚	+1.800.775.688	
比利时	+32 80077160	+32 34002973
丹麦	+45 80820183	+45 89871156
德国	+49 8001014940	+49 8938035677
法国	+33 805102193	+33 170770446
芬兰	+358 800918363	+358 974790110
韩国	+82 80 234 5300	
荷兰	+31 8000222493	+31 207132960
挪威	+47 800 16836	+47 21939693
日本	0800.111.5011	
瑞典	+46 850619671	+46 200883979
瑞士	+41 565800000	+41 800200442
西班牙	+34 911899417	+34 800300143
新加坡	1.800.579.2745	
新西兰	0800.451.650	
意大利	+39 800985513	+39 236003759
英国	+44 8000126019	+44 2073057197
中国	400.066.5835	
中国台湾	00806651752	
中国香港特别行政区	800960230	
其他国家/地区	+44.1799.534000	

安全数据表 (safety data sheet, 简称 SDS) — 可通过 Illumina 网站 (support.illumina.com/sds.html) 获取。
产品文档 — 可从 support.illumina.com 下载。



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (北美以外地区)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

仅供科研使用，不可用于诊断过程。

© 2021 Illumina, Inc. 保留所有权利。

illumina[®]