

Este documento y su contenido son propiedad exclusiva de Illumina, Inc. y sus afiliados ("Illumina") y están previstos solamente para el uso contractual de sus clientes en conexión con el uso de los productos descritos en él y no para ningún otro fin. Este documento y su contenido no se utilizarán ni distribuirán con ningún otro fin ni tampoco se comunicarán, divulgarán ni reproducirán en ninguna otra forma sin el consentimiento previo por escrito de Illumina. Illumina no transfiere mediante este documento ninguna licencia bajo sus derechos de patente, marca comercial, copyright ni derechos de autor o similares derechos de terceros.

Para asegurar el uso correcto y seguro de los productos descritos en este documento, el personal cualificado y adecuadamente capacitado debe seguir las instrucciones incluidas en este de manera rigurosa y expresa. Se debe leer y entender completamente todo el contenido de este documento antes de usar estos productos.

SI NO SE LEE COMPLETAMENTE EL DOCUMENTO Y NO SE SIGUEN EXPRESAMENTE TODAS LAS INSTRUCCIONES DESCRITAS EN ESTE, PODRÍAN PRODUCIRSE DAÑOS EN EL PRODUCTO, LESIONES PERSONALES, INCLUIDOS LOS USUARIOS U OTRAS PERSONAS Y DAÑOS EN OTROS BIENES Y QUEDARÁ ANULADA TODA GARANTÍA APLICABLE AL PRODUCTO.

ILLUMINA NO ASUME RESPONSABILIDAD ALGUNA DERIVADA DEL USO INCORRECTO DE LOS PRODUCTOS AQUÍ DESCRITOS (INCLUIDAS LAS PIEZAS O EL SOFTWARE).

© 2021 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Para obtener información específica sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.

Historial de revisiones

Documento	Fecha	Descripción del cambio
N.º de material 20014309 N.º de documento 1000000002695 v05	Abril de 2021	índice cambiado de 8 ciclos a 10 ciclos.
N.º de material 20014309 N.º de documento 1000000002695 v04	Septiembre de 2020	Actualización de concentración de carga e información de software para incluir los kits rápidos.
N.º de material 20014309 N.º de documento 1000000002695 v03	Febrero de 2020	Actualización de la información del flujo de trabajo para las opciones de ejecución del Manual y de Local Run Manager. Actualización de genomas preinstalados: se elimina Bacillus_cereus_ATCC_10987 y se añade HumanRNAFusion. Información eliminada sobre BaseSpace Onsite, ya que ha dejado de ser admitida. Pequeñas modificaciones de textos.
N.º de material 20014309 N.º de documento 1000000002695 v02	Marzo de 2018	Se ha añadido información relativa al servicio de supervisión proactiva de Illumina en la sección Configuración de los ajustes del análisis. Se ha eliminado el nombre de usuario y la contraseña predeterminados necesarios para iniciar sesión en el sistema operativo. Illumina recomienda utilizar credenciales específicas del centro. Pequeñas modificaciones de textos.
N.º de material 20014309 N.º de documento 1000000002695 v01	Septiembre de 2016	Actualización de las descripciones del software a la versión 1.1.8 del software de control de MiniSeq, lo que incluye el modo de demostración. Actualización de la duración del lavado automático posterior al experimento a 60 minutos. Adición de un paso de configuración del servidor a las instrucciones para seleccionar BaseSpace para el análisis. Mención de que el software Local Run Manager no admite las unidades asignadas.
N.º de material 20002370 N.º de documento 1000000002695 v00	Enero de 2016	Publicación inicial.

Índice

Capítulo 1 Descripción general	1
Introducción	1
Otros recursos	1
Componentes del instrumento	2
Descripción general de los consumibles de secuenciación	5
Bases de datos y genomas preinstalados	7
Capítulo 2 Primeros pasos	8
Puesta en servicio del instrumento	8
Personalización de los ajustes del sistema	9
Consumibles y equipos proporcionados por el usuario	10
Capítulo 3 Secuenciación	12
Introducción	12
Preparación de consumibles	13
Preparación de bibliotecas para la secuenciación	14
Configuración de un experimento de secuenciación	15
Supervisión del progreso del experimento	24
Lavado automático posterior al experimento	25
Extracción del depósito usado de la posición n.º 9	26
Capítulo 4 Mantenimiento	28
Introducción	28
Realización de un lavado manual del instrumento	28
Actualizaciones de software	31
Apéndice A Solución de problemas	34
Archivos de solución de problemas	34
Errores de la comprobación automática	35
Errores de RTA	37
Flujo de trabajo de la rehibridación	37
Comprobación del sistema	39
Ajustes de configuración de red	42
Genomas personalizados	43
Apagado del instrumento	43
Apéndice B Análisis en tiempo real	46
Descripción general de Real-Time Analysis (Análisis en tiempo real)	46
Archivos de entrada y resultados	46
Flujo de trabajo de análisis en tiempo real	47
Apéndice C Archivos de resultados	52

Archivos de resultados de secuenciación	52
Estructura de carpetas de resultados de secuenciación	53
Requisitos del archivo de entrada de análisis	53
Índice alfabético	54
Asistencia técnica	57

Capítulo 1 Descripción general

Introducción	1
Otros recursos	1
Componentes del instrumento	2
Descripción general de los consumibles de secuenciación	5
Bases de datos y genomas preinstalados	7

Introducción

El sistema MiniSeq™ de Illumina® proporciona la tecnología de secuenciación de Illumina estándar del sector de alta calidad junto con la comodidad de un sistema de escritorio fácil de usar y rentable.

Funciones

- ▶ **Secuenciación de alta calidad:** el sistema MiniSeq permite la secuenciación de genomas pequeños, amplicones, enriquecimiento selectivo y ARN con bibliotecas pequeñas.
- ▶ **Software del sistema MiniSeq:** el sistema MiniSeq incluye un paquete de software integrado que controla las operaciones del instrumento, procesa imágenes y genera llamadas de bases. El paquete incluye un software de análisis de datos integrado en el instrumento y herramientas de transferencia de datos para el análisis mediante el uso de otras opciones, como BaseSpace Sequence Hub.
 - ▶ **Análisis de datos integrado en el instrumento:** el software Local Run Manager analiza los datos del experimento de acuerdo con el módulo de análisis especificado para el experimento. El software incluye un paquete de módulos de análisis.
 - ▶ **Integración de BaseSpace® Sequence Hub:** el flujo de trabajo de secuenciación está integrado en BaseSpace Sequence Hub, el entorno informático de genómica de Illumina para la colaboración y el almacenamiento y análisis de datos. Los archivos de resultados se transmiten en tiempo real a BaseSpace Sequence Hub para analizarlos.
- ▶ **Carga fácil de los consumibles:** un mecanismo de abrazadera coloca automáticamente la celda de flujo mientras se carga en el instrumento. Un cartucho de reactivo precargado de un solo uso proporciona los reactivos necesarios para un experimento y el posterior lavado del instrumento. La celda de flujo y el cartucho de reactivo incluyen una identificación integrada para habilitar el seguimiento preciso.

Otros recursos

Las [páginas de asistencia del sistema MiniSeq](#) del sitio web de Illumina proporcionan recursos adicionales. Estos recursos incluyen el software, la formación, los productos compatibles y la siguiente documentación. Revise siempre las páginas de asistencia para obtener las versiones más recientes.

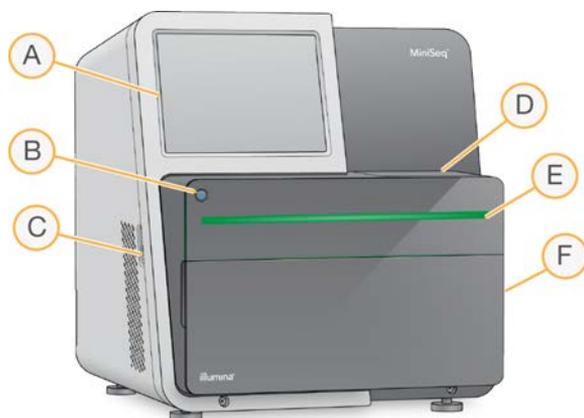
Recurso	Descripción
Herramienta de selección de protocolos personalizados	Un asistente de generación de documentación de extremo a extremo personalizada que está adaptado al método de preparación de bibliotecas, a los parámetros del experimento y al método de análisis utilizado para el experimento de secuenciación.
Guía de preparación del centro para el sistema MiniSeq (n.º de documento 100000002696)	Proporciona especificaciones del espacio del laboratorio, los requisitos eléctricos y las consideraciones medioambientales.

Recurso	Descripción
<i>Guía de cumplimiento y seguridad del sistema MiniSeq (n.º de documento 1000000002698)</i>	Proporciona información sobre las consideraciones de seguridad operativa, las declaraciones de cumplimiento normativo y el etiquetado del instrumento.
<i>Guía de cumplimiento del lector de RFID (n.º de documento 1000000002699)</i>	Proporciona información sobre el lector de RFID del instrumento, las certificaciones de cumplimiento y las consideraciones de seguridad.
<i>Guía de bibliotecas de desnaturalización y dilución para el sistema MiniSeq (n.º de documento 1000000002697)</i>	Proporciona instrucciones para la desnaturalización y dilución de bibliotecas preparadas para un experimento de secuenciación y la preparación de un control PhiX opcional.
<i>Guía del software Local Run Manager (n.º de documento 1000000002702)</i>	Proporciona información acerca del uso del software Local Run Manager y las opciones de análisis disponibles.

Componentes del instrumento

El sistema MiniSeq incluye un monitor con pantalla táctil, una barra de estado, un compartimento de la celda de flujo y un compartimento de reactivos.

Figura 1 Componentes del instrumento

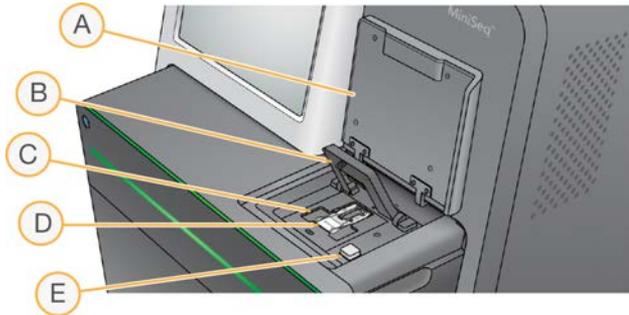


- A **Monitor con pantalla táctil:** permite la configuración integrada en el instrumento y el ajuste mediante el uso de la interfaz del software de control.
- B **Botón de encendido:** enciende el ordenador integrado del instrumento y el sistema operativo.
- C **Puertos USB:** cómodas conexiones para los componentes periféricos.
- D **Compartimento de la celda de flujo:** alberga la celda de flujo durante un experimento de secuenciación.
- E **Barra de estado:** indica el estado del instrumento, es decir, si está en funcionamiento (azul), si requiere asistencia (naranja), si está listo para la secuenciación (verde) o si se debe realizar un lavado en las próximas 24 horas (amarillo).
- F **Compartimento de reactivos:** alberga el cartucho de reactivo y la botella de reactivos usados.

Compartimento de la celda de flujo

La platina de la celda de flujo incluye el cierre de la celda de flujo, que la afianza cuando se cierra. Cuando este se cierra, las patillas junto a la base del cierre alinean los puertos de la celda de flujo con las conexiones de fluídica.

Figura 2 Compartimento de la celda de flujo



- A Puerta del compartimento de la celda de flujo
- B Cierre de la celda de flujo
- C Platina de la celda de flujo
- D Celda de flujo
- E Botón de apertura del cierre de la celda de flujo

La estación térmica, situada bajo la platina de la celda de flujo, controla los cambios de temperatura necesarios para generar y secuenciar grupos.



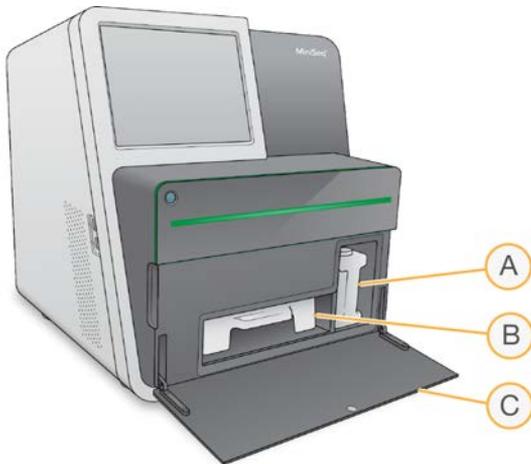
NOTA

No coloque objetos en el instrumento cerca del compartimento de la celda de flujo.

Compartimento de reactivos

La configuración de un experimento de secuenciación en el sistema MiniSeq requiere acceso al compartimento de reactivos para la carga de los consumibles del experimento y el vaciado de la botella de reactivos usados.

Figura 3 Compartimento de reactivos



- A **Botella de reactivos usados:** incluye un tapón roscado para prevenir los derramamientos durante el transporte.
- B **Cartucho de reactivo:** proporciona reactivos en un consumible precargado de un solo uso.
- C **Puerta del compartimento de reactivos:** proporciona acceso al compartimento de reactivos.

La puerta del compartimento de reactivos se abre hacia fuera con apoyo en las bisagras del borde inferior del instrumento. Para abrir la puerta, tire ligeramente de los bordes laterales de esta.



NOTA

No coloque objetos sobre la puerta del compartimento de reactivos. La puerta del compartimento no está diseñada para su uso como estante.

Botón de encendido/apagado

El botón de encendido que se encuentra en la parte delantera del instrumento enciende la alimentación del instrumento y de su ordenador. El botón de encendido/apagado lleva a cabo las siguientes acciones en función del estado de alimentación del instrumento.

Estado de alimentación	Acción
El instrumento está apagado	Pulse brevemente el botón para encender la alimentación.
El instrumento está encendido	Pulse brevemente el botón para apagar la alimentación. Aparece un cuadro de diálogo en la pantalla para confirmar un apagado normal del instrumento.
El instrumento está encendido	Mantenga pulsado el botón de encendido durante 10 segundos para provocar un apagado forzado del instrumento y su ordenador. Utilice este método para apagar el instrumento solo si no responde.



NOTA

En condiciones normales, no apague el instrumento.

El apagado del instrumento durante un experimento de secuenciación finaliza el experimento de forma inmediata. La finalización de un experimento es definitiva. Los consumibles de experimento no se pueden reutilizar y los datos de secuenciación no se guardan.

Software del sistema

El paquete de software del instrumento incluye aplicaciones integradas que realizan experimentos de secuenciación y análisis en el instrumento.

- ▶ **Software de control de MiniSeq:** el software de control le guía a través de los pasos para configurar un experimento de secuenciación, controla las operaciones del instrumento y muestra una descripción general de las estadísticas del experimento a medida que el experimento avanza.
- ▶ **Software de Real-Time Analysis (RTA) (análisis en tiempo real):** el RTA realiza análisis de imágenes y llamadas de bases durante el experimento. Consulte *Descripción general de Real-Time Analysis (Análisis en tiempo real)* en la página 46.
- ▶ **Local Run Manager:** antes de realizar la secuenciación, utilice Local Run Manager para especificar los parámetros del experimento y el método de análisis. Después de la secuenciación, el análisis de datos integrado en el instrumento comenzará automáticamente. Si desea obtener más información, consulte la *Guía del software Local Run Manager (n.º de documento 100000002702)*.

Iconos de estado

Un icono de estado situado en la esquina superior derecha de la pantalla de interfaz del software de control indica cualquier cambio de estado durante la configuración del experimento o durante el experimento.

Icono de estado	Nombre de estado	Descripción
	Estado correcto	El sistema está normal.
	Procesando	El sistema está procesando.
	Atención	Se requiere atención.
	Advertencia	Se ha producido una advertencia. Las advertencias no detienen un experimento ni requieren una acción antes de continuar.
	Error	Se ha producido un error. Los errores precisan una acción antes de continuar con el experimento.

Cuando se produce un cambio en las condiciones, el icono parpadea para alertarle. Seleccione el icono para visualizar una descripción del estado. Seleccione **Acknowledge** (Aceptar) para aceptar el mensaje y **Close** (Cerrar) para cerrar el cuadro de diálogo.

Descripción general de los consumibles de secuenciación

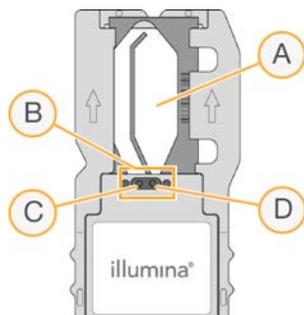
La realización de un experimento de secuenciación con el sistema MiniSeq requiere un kit MiniSeq de un solo uso. Cada kit incluye una celda de flujo y los reactivos necesarios para un experimento de secuenciación.

La celda de flujo y el cartucho de reactivo utilizan la identificación de radiofrecuencia (RFID) para efectuar un seguimiento preciso de los consumibles y garantizar la compatibilidad con los parámetros del experimento especificados.

Celda de flujo

La celda de flujo es un sustrato elaborado con cristal en el que se generan grupos y se lleva a cabo la reacción de secuenciación. La celda de flujo está revestida por el cartucho de la celda de flujo.

Figura 4 Componentes de la celda de flujo



- A Área de adquisición de imágenes
- B Junta de celda de flujo
- C Puerto de salida
- D Puerto de entrada

Los reactivos entran en la celda de flujo a través del puerto de entrada, pasan por el área de adquisición de imágenes de carril único y salen de la celda de flujo por el puerto de salida.

La celda de flujo se suministra seca y en un tubo de celda de flujo que está envuelto en un embalaje metálico. Almacene la celda de flujo en un embalaje metálico sellado a una temperatura de entre 2 y 8 °C hasta su uso. Para obtener más información, consulte *Preparación de la celda de flujo* en la página 13.

Descripción general del cartucho de reactivo

El cartucho de reactivo es un consumible de un solo uso con depósitos con cierre metálico precargados con reactivos de generación de grupos, de secuenciación y de lavado.

Figura 5 Cartucho de reactivo



El cartucho de reactivo incluye un depósito designado para la carga de bibliotecas preparadas. Una vez iniciado el experimento, las bibliotecas se transfieren de forma automática del cartucho de reactivo a la celda de flujo.



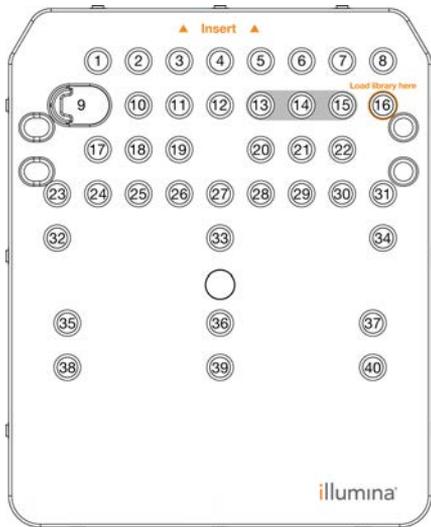
ADVERTENCIA

Este conjunto de reactivos contiene sustancias químicas potencialmente peligrosas. Evite su inhalación, ingestión y el contacto con la piel o los ojos, puesto que puede provocar lesiones. Utilice un equipo de protección, incluidos gafas, guantes y batas de laboratorio adecuados para el riesgo de exposición. Manipule los reactivos utilizados como residuos químicos y deséchelos de conformidad con las normativas y leyes regionales, nacionales y locales aplicables. Para obtener más información sobre seguridad, salud y medioambiente, consulte la hoja de datos de seguridad en support.illumina.com/sds.html.

Almacene el cartucho de reactivo a una temperatura de entre -25 y -15 °C hasta su uso. Para obtener más información, consulte *Preparación del cartucho de reactivo* en la página 13.

Depósitos reservados

Figura 6 Depósitos numerados



Posición	Descripción
13, 14 y 15	Reservados para cebadores personalizados opcionales
16	Carga de bibliotecas

Depósito extraíble de la posición n.º9

El cartucho de reactivo precargado incluye un reactivo de desnaturalización en la posición n.º9 que contiene formamida. Para garantizar un desecho seguro de cualquier reactivo no usado tras el experimento de secuenciación, se puede extraer este depósito. Para obtener más información, consulte [Extracción del depósito usado de la posición n.º9](#) en la página 26.

Bases de datos y genomas preinstalados

Para la mayoría de los métodos de análisis, se requiere una referencia para efectuar la alineación. El ordenador del instrumento tiene preinstalados varios genomas y bases de datos de referencia.

Preinstalado	Descripción
Bases de datos	<ul style="list-style-type: none"> • miRbase for human (miRbase para humanos) • dbSNP for human (dbSNP para humanos) • RefGene for human (RefGene para humanos)
Genomas	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Arabidopsis thaliana</i> • <i>Bacillus cereus</i> ATCC_10987 • vaca (<i>Bos taurus</i>) • <i>E. coli</i> cepa DH10B • <i>E. coli</i> cepa MG1655 • tefrítico (<i>Drosophila melanogaster</i>) • humano (<i>Homo sapiens</i>) versión hg19 • <i>HumanRNAFusion</i> • ratón (<i>Mus musculus</i>) • PhiX • rata (<i>Rattus norvegicus</i>) • <i>Rhodobacter sphaeroides</i> 2.4.1 • <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 8325 • levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S288C)

Capítulo 2 Primeros pasos

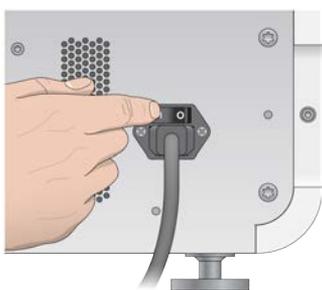
Puesta en servicio del instrumento	8
Personalización de los ajustes del sistema	9
Consumibles y equipos proporcionados por el usuario	10

Puesta en servicio del instrumento

Asegúrese de que el instrumento se haya instalado e inicializado correctamente y de que la configuración del instrumento haya finalizado. Iniciar el instrumento antes de que esté listo puede producir daños en el sistema.

- 1 Coloque el interruptor de encendido principal en la posición I (Encendido).

Figura 7 Interruptor de alimentación situado en la parte trasera del instrumento



- 2 Pulse el botón de encendido situado sobre el compartimento de reactivos. El botón de encendido enciende el ordenador integrado del instrumento y el sistema operativo.

Figura 8 Botón de encendido situado en la parte delantera del instrumento



- 3 Espere hasta que el sistema operativo se haya cargado completamente. Después de inicializarse, se abre la pantalla inicial de Windows. Pulse cualquier tecla para abrir la ventana de inicio de sesión de Windows.
- 4 Inicie sesión en la cuenta de Windows que desee. De ser necesario, póngase en contacto con el administrador de las instalaciones para conocer el nombre de usuario y la contraseña.
- 5 Si selecciona una cuenta de usuario general, el software de control de MiniSeq se carga e inicializa el sistema automáticamente. Si selecciona una cuenta de administrador, el software de control de MiniSeq debe cargarse haciendo doble clic en el icono del sistema de MiniSeq System en el escritorio.

Personalización de los ajustes del sistema

El software de control incluye ajustes personalizables para la identificación del instrumento y las siguientes preferencias del flujo de trabajo:

- ▶ Uso del teclado en pantalla para realizar los pasos de configuración del experimento.
- ▶ Purgado de consumibles al final del experimento.
- ▶ Activación de los indicadores de audio.
- ▶ Enviar datos de rendimiento del instrumento a Illumina.
- ▶ Omisión de la confirmación de comprobación previa al experimento para iniciar el experimento automáticamente.
- ▶ Comprobar automáticamente si hay actualizaciones de software (en BaseSpace Sequence Hub).
- ▶ Habilitar fórmulas del cliente.

Personalizar la identificación del instrumento

- 1 En la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento), seleccione **System Customization** (Personalización del sistema).
- 2 Para asignar una imagen en miniatura para el instrumento, seleccione **Browse** (Examinar) y busque la imagen que prefiera.
- 3 En el campo Nick Name (Alias), introduzca el nombre de instrumento deseado.
- 4 Seleccione **Save** (Guardar) para guardar los ajustes y avanzar a la siguiente pantalla. La imagen y el nombre aparecen en la esquina superior izquierda de cada pantalla.

Establecimiento de la opción de purgado automático

- 1 En la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento), seleccione **System Customization** (Personalización del sistema).
- 2 Marque la casilla de verificación **Purge consumables at end of run** (Purgar consumibles al final del experimento).

Este ajuste purga los reactivos no usados del cartucho de reactivo a la botella de reactivos usados automáticamente después de cada experimento. Si este ajuste está desactivado, los reactivos no usados permanecen en el cartucho de reactivo.



NOTA

El purgado automático de consumibles añade tiempo adicional al flujo de trabajo. Por ejemplo, el purgado de reactivos después de un experimento de 300 ciclos (2×151) requiere 50 minutos aproximadamente.

- 3 Seleccione **Save** (Guardar) para guardar los ajustes y salir de la pantalla.

Establecimiento de la opción de inicio automático

- 1 En la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento), seleccione **System Customization** (Personalización del sistema).
- 2 Marque la casilla de verificación **Skip pre-run check confirmation** (Omitir la confirmación de la comprobación previa al experimento).

Este ajuste inicia el experimento de secuenciación automáticamente después de una comprobación automática satisfactoria. Si este ajuste está desactivado, inicie el experimento manualmente después de la comprobación previa al experimento.

- 3 Seleccione **Save** (Guardar).

Establecimiento de la comprobación automática de actualizaciones de software

- 1 En la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento), seleccione **System Customization** (Personalización del sistema).
- 2 Marque la casilla de verificación **Automatically check for software updates** (Comprobar automáticamente las actualizaciones de software).
Se requiere una conexión a Internet.
- 3 Seleccione **Save** (Guardar) para guardar los ajustes y salir de la pantalla.

Establecimiento de la opción de teclado en pantalla

- 1 En la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento), seleccione **System Customization** (Personalización del sistema).
- 2 Marque la casilla de verificación **Use on-screen keyboard** (Utilizar el teclado en pantalla).
Este ajuste activa el teclado en pantalla para introducir datos durante los pasos de configuración del experimento.
- 3 Seleccione **Save** (Guardar).

Activación de los indicadores de audio

- 1 En la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento), seleccione **System Customization** (Personalización del sistema).
- 2 Marque la casilla de verificación **Play audio** (Reproducir audio) para activar los indicadores de audio en las siguientes situaciones.
 - ▶ Al inicializar el instrumento
 - ▶ Al iniciar un experimento
 - ▶ Cuando se producen errores
 - ▶ Cuando sea necesaria la interacción del usuario
 - ▶ Cuando finalice un experimento
- 3 Seleccione **Save** (Guardar).

Enviar datos de rendimiento del instrumento a Illumina

La opción Send Instrument Performance Data to Illumina (Enviar datos de rendimiento del instrumento a Illumina) viene habilitada por defecto. Esta envía datos de rendimiento del instrumento no del experimento a un servidor BaseSpace Sequence Hub.

Consumibles y equipos proporcionados por el usuario

Los siguientes consumibles y equipos son necesarios para realizar secuenciaciones y para el mantenimiento del sistema.

Consumibles para secuenciación

Consumible	Proveedor	Finalidad
NaOH 1 N (hidróxido sódico)	Proveedor de laboratorio general	Desnaturalización de bibliotecas, dilución a 0,1 N
Paños humedecidos en alcohol isopropilo al 70 % o en etanol al 70 %	VWR, n.º de catálogo 95041-714 (o equivalente) Proveedor de laboratorio general	Limpieza de la celda de flujo y fines generales
Guantes desechables sin talco	Proveedor de laboratorio general	Fines generales
Toallita de laboratorio sin pelusa	VWR, n.º de catálogo 21905-026 (o equivalente)	Limpieza de la celda de flujo

Consumibles para mantenimiento y solución de problemas

Consumible	Proveedor	Finalidad
NaOCl al 5 % (hipoclorito de sodio)	Sigma-Aldrich, n.º de catálogo 239305 (o equivalente de laboratorio)	Realización de un lavado manual posterior al experimento; dilución al 0,12 %
Tween 20	Sigma-Aldrich, n.º de catálogo P7949	Realización de un lavado manual del instrumento; dilución al 0,05 %
Agua de laboratorio	Proveedor de laboratorio general	Realización de un lavado manual del instrumento

Directrices para el agua de laboratorio

Utilice siempre agua de laboratorio o agua desionizada para llevar a cabo los procedimientos del instrumento. No utilice nunca agua corriente. Utilice solamente los siguientes tipos de agua o equivalentes:

- ▶ Agua desionizada
- ▶ Illumina PW1
- ▶ Agua de 18 Megohmios (MΩ)
- ▶ Agua Milli-Q
- ▶ Agua Super-Q
- ▶ Agua de biología molecular

Equipo

Elemento	Proveedor
Congelador, entre -25 °C y -15 °C, sin hielo	Proveedor de laboratorio general
Hielera	Proveedor de laboratorio general
Refrigerador, entre 2 °C y 8 °C	Proveedor de laboratorio general

Capítulo 3 Secuenciación

Introducción	12
Preparación de consumibles	13
Preparación de bibliotecas para la secuenciación	14
Configuración de un experimento de secuenciación	15
Supervisión del progreso del experimento	24
Lavado automático posterior al experimento	25
Extracción del depósito usado de la posición n.º9	26

Introducción

Para realizar un experimento de secuenciación en el sistema MiniSeq, prepare los consumibles del experimento y, a continuación, el software le solicitará que lo configure.

Descripción general del flujo de trabajo

Generación de grupos

Durante la generación de grupos, las moléculas individuales de ADN se unen a la superficie de la celda de flujo y, a continuación, se amplifican para formar grupos.

Secuenciación

Las imágenes de los grupos se obtienen mediante el uso de química de secuenciación de dos canales y combinaciones de filtro específicas para cada uno de los terminadores de cadena marcados con fluorescencia. Tras finalizar la adquisición de imágenes de una placa en la celda de flujo, se procede a la adquisición de imágenes de la placa siguiente. El proceso se repite para cada ciclo de secuenciación. Después del análisis de imágenes, el software ejecuta las llamadas de bases, el filtrado y la puntuación de calidad.

Análisis

A medida que el experimento avanza, el software de control transfiere de forma automática archivos de llamadas de bases (BCL) a BaseSpace o a la ubicación de salida especificada para el análisis de datos. Hay varios métodos de análisis disponibles en función de su aplicación y la configuración de análisis seleccionada para su sistema.

Duración del experimento de secuenciación

La duración del experimento de secuenciación depende del número de ciclos realizados. La longitud máxima es un experimento "paired-end" de 150 ciclos más hasta dos lecturas del índice de diez ciclos cada una.

Para obtener más información sobre las duraciones previstas y otras especificaciones del sistema, visite la [página de especificaciones del sistema MiniSeq](#) en el sitio web de Illumina.

Número de ciclos de una lectura

En un experimento de secuenciación, el número de ciclos realizados en una lectura es un ciclo más que el número de ciclos analizados. Por ejemplo, para realizar un experimento "paired-end" de 150 ciclos, configure el experimento para realizar 151 ciclos por lectura (2×151) para un total de 302 ciclos. Al final del experimento, se habrán analizado 2×150 ciclos. El ciclo adicional de cada lectura se utiliza para el cálculo de hebras retrasadas y adelantadas.

Preparación de consumibles

Preparación del cartucho de reactivo

- 1 Extraiga el cartucho de reactivo almacenado a una temperatura de entre -25 °C y -15 °C .
- 2 Descongele los reactivos mediante una de las siguientes opciones de baño de agua. No sumerja el cartucho. Una vez descongelado, seque la base antes de continuar.

Método	Tiempo hasta la descongelación	Límite de estabilidad
Baño de agua a 37 °C	35 minutos	Hasta 2 horas
Baño de agua a temperatura ambiente (Entre 19 °C y 25 °C)	90 minutos	Hasta 24 horas

Si se están descongelando varios cartuchos en el mismo baño de agua, calcule más tiempo hasta la descongelación.

De forma alternativa, descongele los reactivos mediante una de las siguientes opciones.

Método	Tiempo hasta la descongelación	Límite de estabilidad
Aire a temperatura ambiente (Entre 19 °C y 25 °C)	5 horas	Hasta 24 horas
Refrigerado entre $2\text{ y }8\text{ °C}$	18 horas	Hasta 72 horas

- 3 Invierta el cartucho cinco veces para mezclar los reactivos.
- 4 Realice una inspección de los depósitos grandes desde la parte inferior del cartucho para asegurarse de que los reactivos se hayan descongelado y los depósitos carezcan de cristales de hielo.
- 5 Golpéelo ligeramente sobre la mesa para reducir las burbujas de aire.

Preparación de la celda de flujo

- 1 Extraiga un nuevo embalaje de celda de flujo de su almacenamiento a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C .
- 2 Deje el paquete de la celda de flujo sin abrir a temperatura ambiente durante 30 minutos.



NOTA

Evite el enfriamiento y el calentamiento repetidos de la celda de flujo.

- 3 Extraiga el contenedor de la celda de flujo del embalaje metálico.
- 4 Utilice un nuevo par de guantes sin talco.
- 5 Agarre la celda de flujo por el cartucho de plástico y extráigala del contenedor.

Figura 9 Retirada de la celda de flujo



- 6 Limpie la superficie de cristal de la celda de flujo con un paño sin pelusa humedecido en alcohol.
- 7 Séquela con una toallita de limpieza para lentes sin pelusa. Ponga especial atención alrededor de la junta de color negro de la celda de flujo.
- 8 Realice una inspección de los puertos de la celda de flujo para comprobar que no están obstruidos. Asegúrese de que la junta esté bien asentada.

Preparación de bibliotecas para la secuenciación

Desnaturalización y dilución de bibliotecas

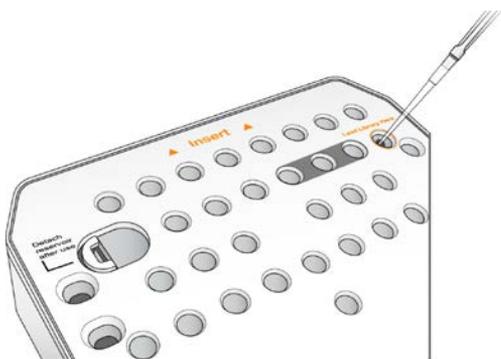
Antes de cargar las bibliotecas en el cartucho de reactivo, desnaturalice y diluya las bibliotecas y añada un control PhiX opcional. Para obtener más información, consulte la *Guía de desnaturalización y dilución de bibliotecas para el sistema MiniSeq* (n.º de documento 1000000002697).

El volumen de carga del sistema MiniSeq es de 500 µl. La concentración de carga es de 1,4 pM para los kits convencionales y de 1,6 pM para los kits rápidos. En la práctica, la concentración de carga puede variar en función de los métodos de cuantificación y preparación de bibliotecas.

Carga de bibliotecas en el cartucho de reactivo

- 1 Limpie el sello metálico que cubre el depósito n.º 16 marcado como **Load library here** (Cargar biblioteca aquí) con una toallita sin pelusa.
- 2 Perfore el sello con una punta de pipeta de 1 ml limpia.
- 3 Añada 500 µl de bibliotecas preparadas de 1,4 pM o 1,6 pM en el depósito n.º 16. Evite tocar el sello metálico cuando dispense las bibliotecas.

Figura 10 Carga de bibliotecas



Configuración de un experimento de secuenciación

Los pasos de configuración del experimento varían en función de la configuración del sistema:

- ▶ **Standalone (Carpeta de resultados):** el sistema solicita a los usuarios que definan los parámetros del experimento en la pantalla Run Setup (Configuración del experimento) del software de control.
- ▶ **Configuración de Local Run Manager:** seleccione de una lista de experimentos predefinidos en Local Run Manager. Si la administración de usuarios está habilitada desde los Ajustes del sistema, es preciso introducir la información de inicio de sesión. La gestión de usuarios viene deshabilitada por defecto.

Configuración de un experimento (configuración del Manual)

- 1 En la pantalla Home (Inicio), seleccione **Sequence** (Secuenciar).
El comando Sequence (Secuenciar) libera los consumibles de un experimento anterior y abre la serie de pantallas de la configuración del experimento.
- 2 Desde la pantalla Run Mode (modo de experimento), seleccione **Manual**.
- 3 **Opcional:** seleccione **Usar BaseSpace Sequence Hub**. Seleccionar supervisión y almacenamiento de experimento o solo supervisión de experimento. Si está activado, se requiere un inicio de sesión en BaseSpace Sequence Hub y una conexión a Internet.

Introducción de parámetros del experimento

- 1 Introduzca el nombre de experimento que desee.
- 2 **[Opcional]** Introduzca el ID de biblioteca que desee.
- 3 Seleccione un tipo de lectura, **Single Read** (Única) o **Paired End**.
- 4 Introduzca el número de ciclos de cada lectura en el experimento de secuenciación.
 - ▶ **Read 1** (Lectura 1): introduzca un valor de, como máximo, 151 ciclos.
 - ▶ **Index 1** (Índice 1): introduzca como máximo 10 ciclos para el cebador del índice 1 (i7).
 - ▶ **Index 2** (Índice 2): introduzca como máximo 10 ciclos para el cebador del índice 2 (i5).
 - ▶ **Read 2** (Lectura 2): introduzca un valor de, como máximo, 151 ciclos. Este valor suele coincidir con el número de ciclos de la lectura 1.

El software de control confirma el número de ciclos especificado con los siguientes criterios:

- ▶ El número total de ciclos no debe exceder el número máximo de ciclos permitido en función del cartucho de reactivo cargado para el experimento.
- ▶ Los ciclos para la Lectura 1 son superiores a los seis ciclos necesarios para la generación de plantillas.
- ▶ El número de ciclos de Lectura del índice no debe superar los ciclos de Lectura 1 y Lectura 2.



NOTA

Asegúrese de especificar el número adecuado de ciclos de Lectura del índice para las bibliotecas que está secuenciando. Para obtener información adicional, consulte la documentación de preparación de la biblioteca.

- 5 **[Opcional]** Si utiliza cebadores personalizados, seleccione la casilla de verificación para los cebadores usados.
 - ▶ **Read 1** (Lectura 1): cebador personalizado para la lectura 1.
 - ▶ **Index 1** (Índice 1): cebador personalizado para el índice 1.
 - ▶ **Index 2** (Índice 2): cebador personalizado para el índice 2.

- ▶ **Read 2** (Lectura 2): cebador personalizado para la lectura 2.
- 6 **[Opcional]** Cambiar ajustes para el experimento actual.
- ▶ **Purge consumables for this run** (Purgar consumibles para este experimento): cambie el ajuste para purgar los consumibles de forma automática tras el experimento actual.
 - ▶ **Output folder** (Carpeta de resultados): cambie la ubicación de la carpeta de resultados del experimento actual. Seleccione **Browse** (Examinar) para ir a una ubicación de carpeta.
- 7 Seleccione **Next** (Siguiente).



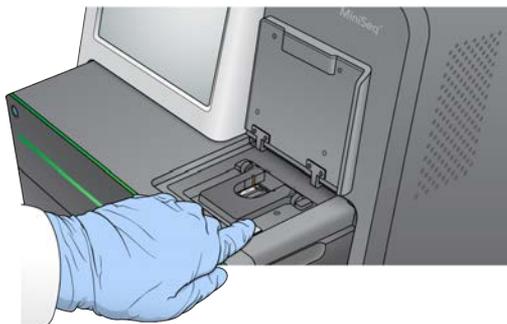
NOTA

No abra la puerta del compartimento de reactivos o la puerta del compartimento de la celda de flujo durante la comprobación automática o durante el experimento de secuenciación.

Carga de la celda de flujo

- 1 Abra la puerta del compartimento de la celda de flujo.
- 2 Pulse el botón de apertura situado a la derecha del cierre de la celda de flujo.

Figura 11 Abra el cierre de la celda de flujo



- 3 Si está presente, retire la celda de flujo usada de un experimento anterior.
- 4 Asegúrese de que la platina de la celda de flujo esté limpia. Si se encuentra suciedad, limpie la platina de la celda de flujo con un paño humedecido en alcohol.
- 5 Coloque la celda de flujo en la platina de la celda de flujo, sobre las patillas de alineación.

Figura 12 Coloque la celda de flujo en la platina



- 6 Bloquee el cierre de la celda de flujo para afianzarla.

Figura 13 Oclusión del cierre de la celda de flujo



- 7 Cierre la puerta del compartimento de la celda de flujo.

Carga del cartucho de reactivo

- 1 Abra la puerta del compartimento de reactivos.
- 2 En caso de que haya un cartucho de reactivo utilizado, retírelo.

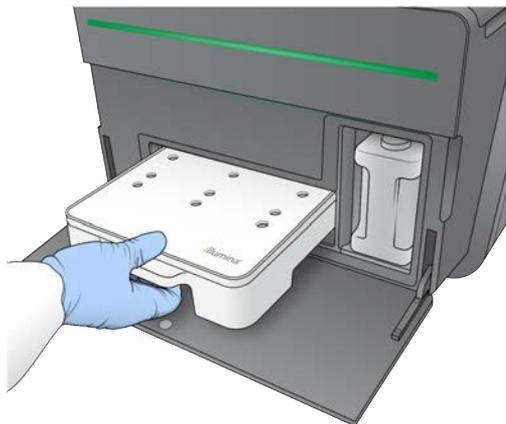


NOTA

Para garantizar un desecho seguro del reactivo no usado con contenido de formamida, se puede extraer el depósito de la posición n.º9. Consulte *Extracción del depósito usado de la posición n.º9 en la página 26*.

- 3 Deslice el cartucho de reactivo dentro del compartimento de reactivos hasta que se detenga el cartucho.

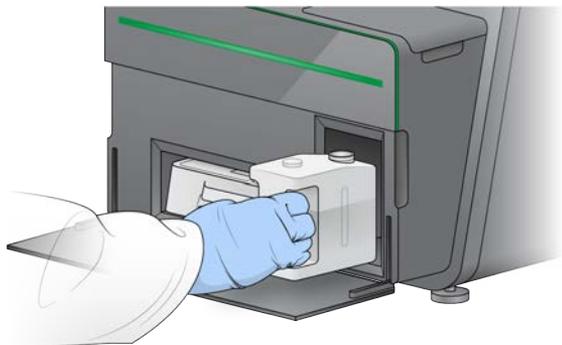
Figura 14 Cargue el cartucho de reactivo



Vaciado de la botella de reactivos usados

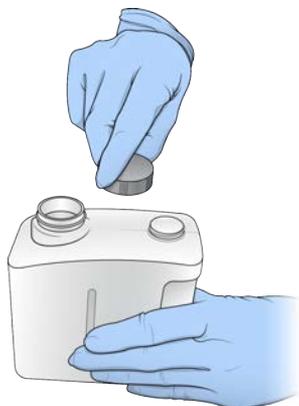
- 1 Extraiga la botella de reactivos usados del compartimento.

Figura 15 Extracción de la botella de reactivos usados



- 2 Para evitar los derramamientos durante el transporte de la botella de reactivos usados, selle la abertura de la botella con un tapón roscado.

Figura 16 Sellado de la botella de reactivos usados



- 3 Deseche el contenido de conformidad con las normativas aplicables.



ADVERTENCIA

Este conjunto de reactivos contiene sustancias químicas potencialmente peligrosas. Evite su inhalación, ingestión y el contacto con la piel o los ojos, puesto que puede provocar lesiones. Utilice un equipo de protección, incluidos gafas, guantes y batas de laboratorio adecuados para el riesgo de exposición. Manipule los reactivos utilizados como residuos químicos y deséchelos de conformidad con las normativas y leyes regionales, nacionales y locales aplicables. Para obtener más información sobre seguridad, salud y medioambiente, consulte la hoja de datos de seguridad en support.illumina.com/sds.html.

- 4 Con el tapón roscado retirado, deslice la botella de reactivos usados vacía dentro del compartimento hasta que se detenga.
- 5 Cierre la puerta de compartimento y seleccione **Next** (Siguiente).

Confirmación de los parámetros del experimento

- 1 Confirme los parámetros del experimento.
El software de control confirma el número de ciclos especificado con los siguientes criterios:
 - ▶ El número total de ciclos no debe exceder el número máximo de ciclos permitido en función del cartucho de reactivo cargado para el experimento.
 - ▶ Los ciclos para la Lectura 1 son superiores a los seis ciclos necesarios para la generación de plantillas.
 - ▶ El número de ciclos de Lectura del índice no debe superar los ciclos de Lectura 1 y Lectura 2.



NOTA

Asegúrese de especificar el número adecuado de ciclos de Lectura del índice para las bibliotecas que está secuenciando. Para obtener información adicional, consulte la documentación de preparación de la biblioteca.

- 2 **[Opcional]** Seleccione **Edit** (Editar) para cambiar los parámetros del experimento. Cuando termine, seleccione **Save** (Guardar).
 - ▶ **Run parameters** (Parámetros del experimento): cambie el tipo de lectura o el número de ciclos por lectura.
 - ▶ **Custom primers** (Cebadores personalizados): cambie la configuración de los cebadores personalizados.
- 3 Seleccione **Next** (Siguiendo).



NOTA

No abra la puerta del compartimento de reactivos o la puerta del compartimento de la celda de flujo durante la comprobación automática o durante el experimento de secuenciación.

Revisión de la comprobación previa al experimento

- 1 Revise los resultados de la comprobación automática.
 - ▶ Para detener una comprobación en curso, seleccione **Cancel** (Cancelar).
 - ▶ Todos los elementos que no la superen, precisan una acción antes de continuar. Consulte [Errores de la comprobación automática en la página 35](#).
 - ▶ Para reiniciar la comprobación, seleccione **Retry** (Reintentar). La comprobación reanuda la primera comprobación incompleta o con error.
- 2 Para iniciar el experimento, seleccione una de las siguientes opciones.
 - ▶ Si el sistema no está configurado para iniciarse automáticamente después de una comprobación satisfactoria, seleccione **Start** (Iniciar).
 - ▶ Si el sistema está configurado para iniciarse automáticamente después de una comprobación satisfactoria, el experimento de secuenciación comienza automáticamente. No tiene que estar presente. Sin embargo, si se produce cualquier error durante la comprobación, el experimento no comenzará automáticamente.

Configuración de un experimento (configuración de Local Run Manager)

- 1 En la pantalla Home (Inicio), seleccione **Sequence** (Secuenciar).
El comando Sequence (Secuenciar) libera los consumibles de un experimento anterior y abre la serie de pantallas de la configuración del experimento.
- 2 En la pantalla Run Setup (Configuración del experimento), seleccione **Local Run Manager**.

- 3 **Opcional:** seleccione **Usar BaseSpace Sequence Hub**. Seleccionar supervisión y almacenamiento de experimento o solo supervisión de experimento. Si está activado, se requiere un inicio de sesión en BaseSpace y una conexión a Internet.

Inicie sesión en Local Run Manager

- 1 Introduzca el nombre de usuario y la contraseña.
No es preciso introducir las credenciales de inicio de sesión cuando esté deshabilitada la administración de usuarios en Local Run Manager.
- 2 Seleccione **Next** (Siguiete).

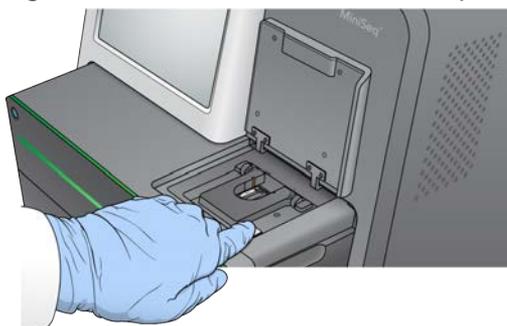
Selección de experimento disponible

- 1 Seleccione el nombre de un experimento en la lista de experimentos disponibles.
Utilice las flechas arriba y abajo para desplazarse por la lista o introduzca un nombre de experimento en el campo Search (Buscar).
- 2 Seleccione **Next** (Siguiete).

Carga de la celda de flujo

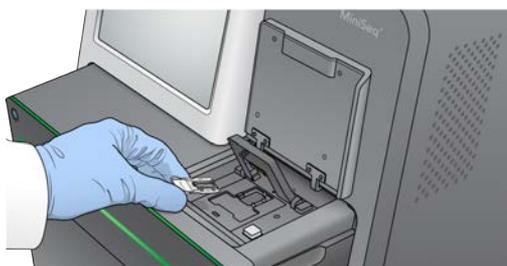
- 1 Abra la puerta del compartimento de la celda de flujo.
- 2 Pulse el botón de apertura situado a la derecha del cierre de la celda de flujo.

Figura 17 Abra el cierre de la celda de flujo



- 3 Si está presente, retire la celda de flujo usada de un experimento anterior.
- 4 Asegúrese de que la platina de la celda de flujo esté limpia. Si se encuentra suciedad, limpie la platina de la celda de flujo con un paño humedecido en alcohol.
- 5 Coloque la celda de flujo en la platina de la celda de flujo, sobre las patillas de alineación.

Figura 18 Coloque la celda de flujo en la platina



- 6 Bloquee el cierre de la celda de flujo para afianzarla.

Figura 19 Oclusión del cierre de la celda de flujo



- 7 Cierre la puerta del compartimento de la celda de flujo.

Carga del cartucho de reactivo

- 1 Abra la puerta del compartimento de reactivos.
- 2 En caso de que haya un cartucho de reactivo utilizado, retírelo.

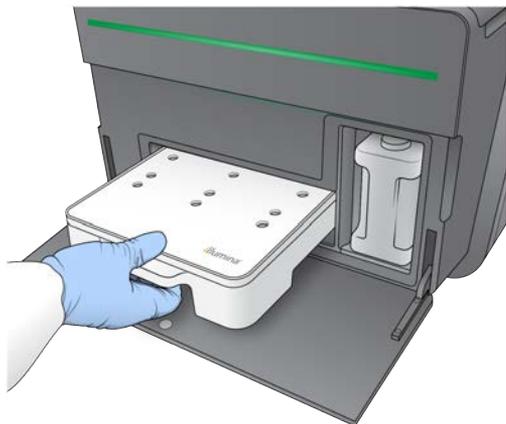


NOTA

Para garantizar un desecho seguro del reactivo no usado con contenido de formamida, se puede extraer el depósito de la posición n.º9. Consulte *Extracción del depósito usado de la posición n.º9 en la página 26*.

- 3 Deslice el cartucho de reactivo dentro del compartimento de reactivos hasta que se detenga el cartucho.

Figura 20 Cargue el cartucho de reactivo

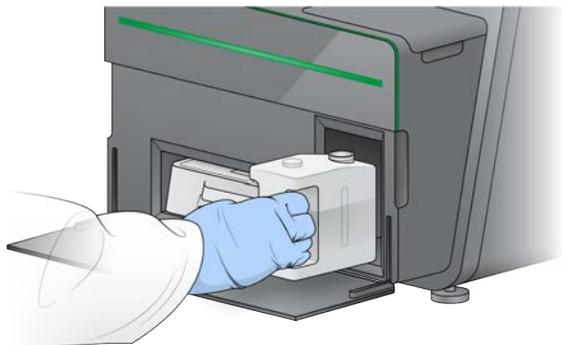


- 4 En la lista desplegable Recipe (Fórmula), seleccione una fórmula. Solo se muestran las fórmulas compatibles.

Vaciado de la botella de reactivos usados

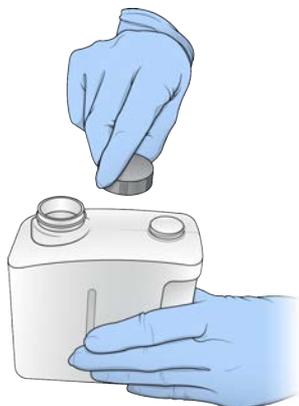
- 1 Extraiga la botella de reactivos usados del compartimento.

Figura 21 Extracción de la botella de reactivos usados



- 2 Para evitar los derramamientos durante el transporte de la botella de reactivos usados, selle la abertura de la botella con un tapón roscado.

Figura 22 Sellado de la botella de reactivos usados



- 3 Deseche el contenido de conformidad con las normativas aplicables.



ADVERTENCIA

Este conjunto de reactivos contiene sustancias químicas potencialmente peligrosas. Evite su inhalación, ingestión y el contacto con la piel o los ojos, puesto que puede provocar lesiones. Utilice un equipo de protección, incluidos gafas, guantes y batas de laboratorio adecuados para el riesgo de exposición. Manipule los reactivos utilizados como residuos químicos y deséchelos de conformidad con las normativas y leyes regionales, nacionales y locales aplicables. Para obtener más información sobre seguridad, salud y medioambiente, consulte la hoja de datos de seguridad en support.illumina.com/sds.html.

- 4 Con el tapón roscado retirado, deslice la botella de reactivos usados vacía dentro del compartimento hasta que se detenga.
- 5 Cierre la puerta de compartimento y seleccione **Next** (Siguiente).

Confirmación de los parámetros del experimento

- 1 Confirme los parámetros del experimento.
El software de control confirma el número de ciclos especificado con los siguientes criterios:
 - ▶ El número total de ciclos no debe exceder el número máximo de ciclos permitido en función del cartucho de reactivo cargado para el experimento.
 - ▶ Los ciclos para la Lectura 1 son superiores a los seis ciclos necesarios para la generación de plantillas.
 - ▶ El número de ciclos de Lectura del índice no debe superar los ciclos de Lectura 1 y Lectura 2.



NOTA

Asegúrese de especificar el número adecuado de ciclos de Lectura del índice para las bibliotecas que está secuenciando. Para obtener información adicional, consulte la documentación de preparación de la biblioteca.

- 2 **[Opcional]** Seleccione **Edit** (Editar) para cambiar los parámetros del experimento. Cuando termine, seleccione **Save** (Guardar).
 - ▶ **Run parameters** (Parámetros del experimento): cambie el tipo de lectura o el número de ciclos por lectura.
 - ▶ **Custom primers** (Cebadores personalizados): cambie la configuración de los cebadores personalizados.
- 3 Seleccione **Next** (Siguiente).



NOTA

No abra la puerta del compartimento de reactivos o la puerta del compartimento de la celda de flujo durante la comprobación automática o durante el experimento de secuenciación.

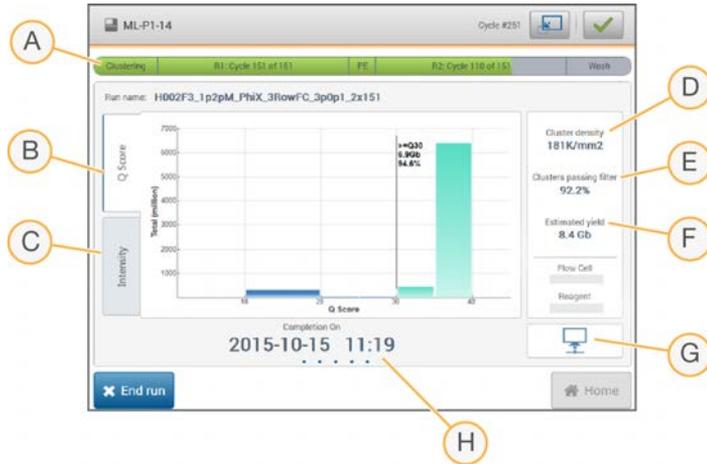
Revisión de la comprobación previa al experimento

- 1 Revise los resultados de la comprobación automática.
 - ▶ Para detener una comprobación en curso, seleccione **Cancel** (Cancelar).
 - ▶ Todos los elementos que no la superen, precisan una acción antes de continuar. Consulte [Errores de la comprobación automática en la página 35](#).
 - ▶ Para reiniciar la comprobación, seleccione **Retry** (Reintentar). La comprobación reanuda la primera comprobación incompleta o con error.
- 2 Para iniciar el experimento, seleccione una de las siguientes opciones.
 - ▶ Si el sistema no está configurado para iniciarse automáticamente después de una comprobación satisfactoria, seleccione **Start** (Iniciar).
 - ▶ Si el sistema está configurado para iniciarse automáticamente después de una comprobación satisfactoria, el experimento de secuenciación comienza automáticamente. No tiene que estar presente. Sin embargo, si se produce cualquier error durante la comprobación, el experimento no comenzará automáticamente.

Supervisión del progreso del experimento

- 1 Supervise el progreso del experimento, las intensidades y las puntuaciones de calidad mientras los datos de medición aparecen en la pantalla.

Figura 23 Progreso y datos de medición del experimento de secuenciación



- A **Run progress** (Progreso del experimento): muestra el paso actual y el número de ciclos completados para cada lectura. La barra de progreso no es proporcional a la velocidad del experimento de cada paso.
- B **Q-Score (Puntuación Q)**: muestra la distribución de las puntuaciones de calidad (puntuaciones Q). Consulte *Puntuación de calidad en la página 49*.
- C **Intensity (Intensidad)**: muestra el valor de las intensidades de grupos del percentil 90 para cada placa. Los colores del diagrama indican cada base: el rojo es A, el verde es C, el azul es G y el negro es T.
- D **Cluster density (K/mm²) (Densidad de grupos [K/mm²])**: muestra el número de grupos detectado para el experimento.
- E **Clusters passing filter (%) (Grupos que superan el filtro [%])**: muestra el porcentaje de grupos que superan el filtro. Consulte *Grupos que superan el filtro en la página 49*.
- F **Estimated yield (Gb) (Rendimiento estimado [Gb])**: muestra el número proyectado de bases para el experimento.
- G **Data transfer status (Estado de transferencia de datos)**: muestra el estado de transferencia de los datos basado en la configuración del análisis.
- H **Time to completion (Tiempo hasta la finalización)**: muestra la fecha y la hora (aaaa-mm-dd hh:mm) de finalización del experimento.



NOTA

Tras seleccionar Home (Inicio), no es posible volver a ver los criterios de medición del experimento. No obstante, se puede acceder a los criterios de medición del experimento en BaseSpace desde un ordenador conectado a la red con el visor del análisis de secuenciación, o desde un ordenador conectado a la red con Local Run Manager.

Ciclos de criterios de medición del experimento

Los criterios de medición del experimento aparecen en distintos puntos de un experimento.

- ▶ Durante los pasos de generación de grupos, no se mostrarán los criterios de medición.
- ▶ Los primeros cinco ciclos se reservan para la generación de plantillas.

- ▶ En el ciclo n.º6, están disponibles la densidad de grupos aparente y las intensidades del ciclo n.º 1.
- ▶ Después del ciclo n.º25, están disponibles los grupos que superan el filtro, el rendimiento y las puntuaciones de calidad.

Estado de la transferencia de datos

En función de la configuración de análisis seleccionada, durante el experimento aparece un icono en la pantalla para indicar el estado de conexión.

Estado	BaseSpace	Local Run Manager	Standalone (configuración independiente)
Conectado			
Transfiriendo datos			
Desconectado			
Desactivado			

Es posible que aparezcan varios iconos en la pantalla. Por ejemplo, si los datos del experimento se están transfiriendo a BaseSpace y una ubicación de carpeta de resultados adicional, aparecen un icono de BaseSpace y un icono de configuración independiente.

Universal Copy Service (Servicio de copia universal)

El paquete de software del sistema MiniSeq incluye un Universal Copy Service (Servicio de copia universal). A medida que el RTA genera los archivos, el servicio los copia a la ubicación de la carpeta de resultados especificada.

Si la transferencia de datos se interrumpe durante el experimento, los datos se almacenan temporalmente en el ordenador del instrumento. Al restablecer la conexión, la transferencia de datos se reanuda de manera automática durante el experimento. Si la conexión no se restablece antes de que finalice el experimento, desplace los datos manualmente a la ubicación que prefiera.

Transferencia a BaseSpace

Universal Copy Service (Servicio de copia universal) transfiere datos del experimento a BaseSpace. Los datos se transfieren continuamente de Universal Copy Service (Servicio de copia universal) a BaseSpace.

Si especifica una ubicación adicional para los datos del experimento, los datos se transfieren a la ubicación con independencia del estado de Universal Copy Service (Servicio de copia universal).

Lavado automático posterior al experimento

Cuando finaliza el experimento de secuenciación, el software inicia un lavado automático posterior al experimento con la solución de lavado y NaOCl suministrado en el cartucho de reactivo.

El lavado automático posterior al experimento dura aproximadamente 60 minutos. Al finalizar el lavado, el botón Home (Inicio) se activa. Los resultados de secuenciación permanecen visibles en la pantalla durante el lavado.

Después del lavado

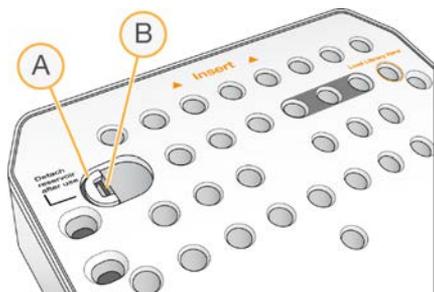
Después del lavado, los dispensadores permanecen en la posición bajada para evitar que entre aire en el sistema. Deje el cartucho en su sitio hasta el siguiente experimento.

Extracción del depósito usado de la posición n.º 9

El depósito de la posición n.º 9 del cartucho de reactivo contiene formamida. Antes de eliminar el cartucho de reactivo usado, puede retirar el depósito de la posición n.º 9 para eliminarlo por separado.

- 1 Con unos guantes puestos, ejerza presión en la pestaña de separación situada en la posición n.º 9 para separar los tres puntos de conexión.

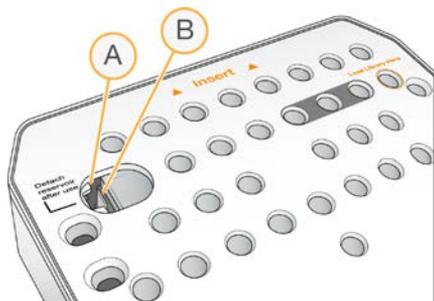
Figura 24 Pestaña de separación en la posición n.º 9



- A Pestaña de separación intacta
- B Pestillo del depósito

- 2 Deslice la pestaña de separación de forma lateral hacia el borde izquierdo del cartucho, de modo que la pestaña de separación se deslice hacia la parte inferior de la tapa del cartucho.

Figura 25 Pestaña de separación apartada, pestillo del depósito visible



- A Pestaña de separación debajo de la tapa del cartucho
- B Pestillo del depósito

- 3 Ejerza presión en el pestillo del depósito de plástico transparente hacia abajo y hacia la derecha. El depósito se soltará de la parte inferior del cartucho de reactivo.
- 4 Deseche el depósito de conformidad con las normativas aplicables.



ADVERTENCIA

Este conjunto de reactivos contiene sustancias químicas potencialmente peligrosas. Evite su inhalación, ingestión y el contacto con la piel o los ojos, puesto que puede provocar lesiones. Utilice un equipo de protección, incluidos gafas, guantes y batas de laboratorio adecuados para el riesgo de exposición. Manipule los reactivos utilizados como residuos químicos y deséchelos de conformidad con las normativas y leyes regionales, nacionales y locales aplicables. Para obtener más información sobre seguridad, salud y medioambiente, consulte la hoja de datos de seguridad en support.illumina.com/sds.html.

Capítulo 4 Mantenimiento

Introducción	28
Realización de un lavado manual del instrumento	28
Actualizaciones de software	31

Introducción

Los procedimientos de mantenimiento incluyen lavados manuales del instrumento y actualizaciones del software del sistema si están disponibles. No es necesario ningún otro mantenimiento periódico.

- ▶ **Lavados del instrumento:** un lavado automático posterior al experimento después de cada experimento de secuenciación mantiene el rendimiento del instrumento. Sin embargo, es necesario realizar un lavado manual en ciertas situaciones. Consulte *Realización de un lavado manual del instrumento en la página 28*.
- ▶ **Actualizaciones de software:** cuando haya disponible una nueva versión del sistema, puede actualizar el software de forma automática a través de una conexión a BaseSpace o de forma manual si descarga previamente el instalador del sitio web de Illumina. Consulte *Actualizaciones de software en la página 31*.

Mantenimiento preventivo

Illumina recomienda programar un servicio de mantenimiento preventivo cada año. Si no dispone de contrato de servicios, póngase en contacto con el comercial de su región o con el servicio de asistencia técnica de Illumina para acordar un servicio de mantenimiento preventivo facturable.

Realización de un lavado manual del instrumento

Entre las opciones de lavado manual, están el lavado rápido y el lavado manual posterior al experimento.

Tipos de lavado	Descripción
Lavado rápido Duración: 20 minutos	Hace falta hacer un lavado rápido cada siete días cuando el instrumento esté inactivo o después de apagarlo. El lavado limpia el sistema con una solución de lavado proporcionada por el usuario de agua de laboratorio y Tween 20.
Lavado manual posterior al experimento Duración: 90 minutos	Se precisa un lavado manual posterior al experimento si no se realiza el lavado automático posterior a este, como cuando un experimento termina pronto y la celda de flujo se guarda para su posterior rehibridación. El lavado limpia el sistema con hipoclorito de sodio al 0,12 % proporcionado por el usuario y una solución de lavado de agua de laboratorio y Tween 20.



NOTA

Utilice siempre una dilución de NaOCl nueva preparada en las últimas **24 horas**. Si prepara un volumen superior a 1 ml, almacene la dilución sobrante a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C para utilizar en las próximas 24 horas. De lo contrario, deseche la dilución de NaOCl sobrante.

Un lavado manual del instrumento requiere el cartucho de lavado y una celda de flujo de lavado proporcionados con el instrumento. De forma alternativa, puede utilizar para el lavado una celda de flujo usada.

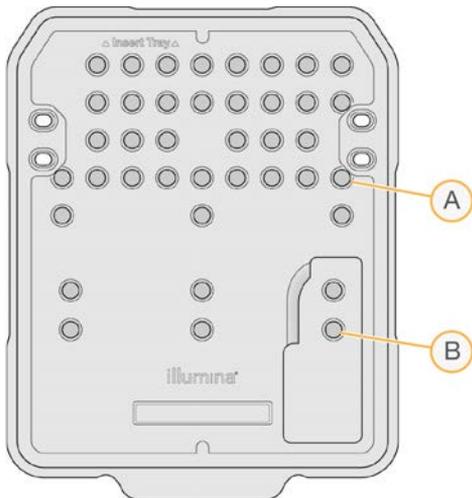
Figura 26 Cartucho de lavado



Preparación para un lavado manual posterior al experimento

- 1 Combine los siguientes volúmenes para que dé como resultado NaOCl al 0,12 %:
 - ▶ NaOCl al 5 % (31 μ l)
 - ▶ Agua de laboratorio (1269 μ l)
- 2 Añada 1,3 ml de NaOCl al 0,12 % al cartucho de lavado.
El depósito correcto es equivalente a la posición n.º31 en el cartucho de reactivo precargado.

Figura 27 Posiciones del NaOCl y la solución de lavado



- A NaOCl al 0,12 %
- B Solución de lavado

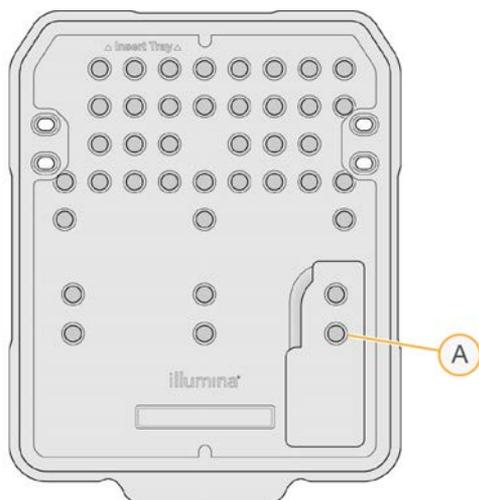
- 3 Combine los siguientes volúmenes para que dé como resultado una solución de lavado Tween 20 al 0,05 %.
 - ▶ Tween 20 al 100 % (40 μ l)
 - ▶ Agua de laboratorio (80 ml)
- 4 Añada 80 ml de solución de lavado al cartucho de lavado.
El depósito correcto es equivalente a la posición n.º40 en el cartucho de reactivo precargado.

- 5 En la pantalla Home (Inicio), seleccione **Perform Wash** (Realizar lavado) y, a continuación, seleccione **Manual post-run wash** (Lavado manual posterior al experimento).

Preparación para un lavado rápido

- 1 Combine los siguientes volúmenes para que dé como resultado una solución de lavado Tween 20 al 0,05 %.
 - ▶ 100 % Tween 20 (20 µl)
 - ▶ Agua de laboratorio (40 ml)
- 2 Añada 40 ml de solución de lavado al cartucho de lavado.
El depósito correcto es equivalente a la posición n.º 40 en el cartucho de reactivo precargado.

Figura 28 Posición de la solución de lavado



A Solución de lavado

- 3 En la pantalla Home (Inicio), seleccione **Perform wash** (Realizar lavado) y, a continuación, seleccione **Quick Wash** (Lavado rápido).

Carga de la celda de flujo de lavado y del cartucho de lavado

- 1 Cargue la celda de flujo de lavado. Cierre la abrazadera de la celda de flujo y, a continuación, la puerta.



NOTA

De forma alternativa, puede cargar una celda de flujo usada.

- 2 Extraiga el cartucho de reactivo usado del experimento anterior si todavía no lo ha hecho.
- 3 Cargue el cartucho de lavado preparado.

- 4 Extraiga la botella de reactivos usados y deseche el contenido de conformidad con las normativas aplicables.



ADVERTENCIA

Este conjunto de reactivos contiene sustancias químicas potencialmente peligrosas. Evite su inhalación, ingestión y el contacto con la piel o los ojos, puesto que puede provocar lesiones. Utilice un equipo de protección, incluidos gafas, guantes y batas de laboratorio adecuados para el riesgo de exposición. Manipule los reactivos utilizados como residuos químicos y deséchelos de conformidad con las normativas y leyes regionales, nacionales y locales aplicables. Para obtener más información sobre seguridad, salud y medioambiente, consulte la hoja de datos de seguridad en support.illumina.com/sds.html.

- 5 Deslice la botella de reactivos usados vacía dentro del compartimento hasta que se detenga.
- 6 Cierre la puerta del compartimento de reactivos.
- 7 Seleccione **Next** (Siguiente).

Inicio del lavado

- 1 Una vez finalizada la comprobación, seleccione **Start** (Iniciar).
- 2 Una vez finalizado el lavado, seleccione **Home** (Inicio).

Después del lavado

Después del lavado, los dispensadores permanecen en la posición bajada para evitar que entre aire en el sistema. Deje el cartucho en su sitio hasta el siguiente experimento.

Actualizaciones de software

Las actualizaciones de software se suministran en un paquete llamado System Suite, que incluye el software siguiente:

- ▶ Software de control de MiniSeq
- ▶ Fórmulas de MiniSeq
- ▶ RTA2
- ▶ Local Run Manager
- ▶ Software de servicio de MiniSeq
- ▶ Universal Copy Service (Servicio de copia universal)

Las notas de la versión del software están disponibles en la página de asistencia del sistema MiniSeq en el sitio web de Illumina.

Puede instalar las actualizaciones de software de forma automática con una conexión a Internet o de forma manual desde una ubicación de red o USB.

- ▶ **Actualizaciones automáticas:** si el instrumento está conectado a una red con acceso a Internet, aparecerá un icono de alerta  en el botón Manage Instrument (Administrar instrumento) de la pantalla Home (Inicio) cuando haya una actualización de software disponible.
- ▶ **Actualizaciones manuales:** descargue el instalador de System Suite de la [página de asistencia técnica del sistema MiniSeq](#) en el sitio web de Illumina.



NOTA

Si cancela una actualización antes de que la instalación haya finalizado, la actualización se detiene en el punto actual de la instalación. Todos los cambios realizados hasta el momento de la cancelación no se desinstalan ni se revierten a la versión anterior.

Actualización automática de software

- 1 Seleccione **Manage Instrument** (Administrar instrumento).
- 2 Seleccione **Software Update** (Actualización de software).
- 3 Seleccione **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Instalar la actualización descargada de BaseSpace).
- 4 Seleccione **Update** (Actualizar) para iniciar la actualización. Se abre un cuadro de diálogo para confirmar el comando.
- 5 Siga los mensajes del asistente de instalación:
 - a Acepte el acuerdo de licencia.
 - b Revise la lista de software incluido en la actualización.

Al finalizar la actualización, el software de control se reinicia automáticamente.



NOTA

Si se incluye una actualización de firmware, es necesario efectuar un reinicio automático del sistema después de que el firmware se haya actualizado.

Actualización manual de software

- 1 Descargue el instalador de System Suite del sitio web de Illumina y guárdelo en una ubicación de red de la lista blanca. Illumina recomienda D:\Illumina o C:\Illumina. De manera alternativa, copie el archivo de instalación del software en una unidad USB portátil.
- 2 Seleccione **Manage Instrument** (Administrar instrumento).
- 3 Seleccione **Software Update** (Actualización de software).
- 4 Seleccione **Manually install the update from the following location** (Instalar manualmente la actualización desde la siguiente ubicación).
- 5 Seleccione **Browse** (Examinar) para ir a la ubicación del archivo de instalación del software y, a continuación, seleccione **Update** (Actualizar).
- 6 Siga los mensajes del asistente de instalación:
 - a Acepte el acuerdo de licencia.
 - b Revise la lista de software incluido en la actualización.

Al finalizar la actualización, el software de control se reinicia automáticamente.



NOTA

Si se incluye una actualización de firmware, es necesario efectuar un reinicio automático del sistema después de que el firmware se haya actualizado.

Requisitos del software del kit rápido

El uso de kits rápidos con el sistema MiniSeq requiere un software de control de MiniSeq v2.1 o superior. Se le solicita a un administrador que actualice de v2.0 a v2.1. Se requiere Windows 10 para instalar el software de control de MiniSeq v2.0 o superior.

Apéndice A Solución de problemas

Archivos de solución de problemas	34
Errores de la comprobación automática	35
Errores de RTA	37
Flujo de trabajo de la rehibridación	37
Comprobación del sistema	39
Ajustes de configuración de red	42
Genomas personalizados	43
Apagado del instrumento	43

Archivos de solución de problemas

Archivo clave	Carpeta	Descripción
Archivo de información del experimento (RunInfo.xml)	Carpeta raíz	Contiene la siguiente información: <ul style="list-style-type: none">• Nombre del experimento• Número de ciclos del experimento• Número de ciclos de cada lectura• Si la lectura es una lectura indexada• Número de sectores y placas de la celda de flujo
Archivo de parámetros del experimento (RunParameters.xml)	Carpeta raíz	Contiene información sobre los parámetros del experimento y los componentes del experimento. La información incluye la identificación de radiofrecuencia (RFID), el número de serie, el número de lote y la fecha de caducidad.
Archivo de configuración de RTA (RTAConfiguration.xml)	Data\Intensities	Contiene los parámetros de configuración de RTA para el experimento. El archivo RTAConfiguration.xml se crea al inicio del experimento.
Archivos InterOp (*.bin)	InterOp	Archivos binarios de informes utilizados por el Visor del análisis de secuenciación. Los archivos InterOp se actualizan durante el experimento.
Archivos de registro	Logs (Registros)	Los archivos de registro describen cada paso llevado a cabo por el instrumento en cada ciclo y enumeran las versiones de software y firmware utilizadas con el experimento. El archivo llamado [NombreDelInstrumento]_CurrentHardware.csv muestra los números de serie de los componentes del instrumento.
Archivos de registro de errores (*ErrorLog*.txt)	RTA Logs (Registros de RTA)	Registro de errores de RTA. Los archivos de registro de errores se actualizan siempre que se produce un error.
Archivos de registro global (*GlobalLog*.tsv)	RTA Logs (Registros de RTA)	Registro de todos los eventos de RTA. Los archivos de registro global se actualizan durante el experimento.
Archivos de registro de carril (*LaneLog*.txt)	RTA Logs (Registros de RTA)	Registro de eventos de procesamiento de RTA. Los archivos de registro de carril se actualizan durante el experimento.

Recursos de solución de problemas

Para cuestiones técnicas, visite las páginas de asistencia del sistema MiniSeq en el sitio web de Illumina. Las páginas de asistencia proporcionan acceso a la documentación, las descargas y las preguntas frecuentes.

Inicie sesión en su cuenta de MyIllumina para acceder a los boletines de asistencia.

Si tiene problemas con el rendimiento o la calidad de los experimentos, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina. Consulte [Asistencia técnica en la página 57](#).

Le recomendamos compartir un enlace con el resumen del experimento en BaseSpace con el servicio de asistencia técnica de Illumina para facilitar la solución de problemas.

Estado del proceso

El Software de control de MiniSeq muestra el estado de al menos tres experimentos en la carpeta temporal del sistema. En la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento), seleccione **Process status** (Estado del proceso).

Para cada nombre del experimento, el sistema muestra el estado de los siguientes componentes:

- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** (Análisis en tiempo real): se basa en el procesamiento de archivos BCL
- ▶ **Local Run Manager**: indica si se ha utilizado Local Run Manager para realizar el experimento
- ▶ **File Copy** (Copia de archivo): se basa en la transferencia de archivos mediante el uso del servicio de copia de experimento
- ▶ **BaseSpace**: indica si se ha utilizado BaseSpace para realizar el experimento

Carpeta del archivo de secuenciación

El software de control de MiniSeq guarda los archivos de resumen del experimento en un ordenador del sistema en D:\Illumina\MiniSeq Sequencing Archive para cada experimento realizado en el instrumento.

En esta carpeta, existe una subcarpeta para cada experimento realizado en el instrumento que contiene los archivos siguientes:

- ▶ **RunCompletionStatus.xml**: contiene el estado de finalización, el nombre de la carpeta del experimento, el número de ciclos planificado y realizado, la densidad de grupos, los grupos que superan el filtro y el rendimiento estimado del experimento.
- ▶ **RunParameters.xml**: contiene información sobre los parámetros y componentes del experimento. La información incluye la identificación de radiofrecuencia (RFID), el número de serie, el número de lote y la fecha de caducidad.

Errores de la comprobación automática

Si se producen errores durante la comprobación automática previa al experimento, utilice las siguientes acciones recomendadas para resolver el error.

Si falla una comprobación previa al experimento, la identificación de radiofrecuencia (RFID) del cartucho de reactivo no está bloqueada y puede usarse en un experimento posterior. Sin embargo, la RFID se bloquea después de que se hayan perforado los cierres metálicos.

Comprobaciones del sistema	Acción recomendada
Doors Closed (Puertas cerradas)	Asegúrese de que las puertas del compartimento estén cerradas.
Consumables Loaded (Consumibles cargados)	Los sensores de los consumibles no registran debidamente. Asegúrese de que todos los consumibles estén bien cargados. En las pantallas de configuración del experimento, seleccione Back (Atrás) para volver al paso de carga y repita la configuración del experimento.
Required Software (Software necesario)	Faltan los componentes críticos del software. Lleve a cabo una actualización manual del software para restablecer todos los componentes del software.

Comprobaciones del sistema	Acción recomendada
Instrument Disk Space (Espacio de disco del instrumento)	El disco duro del instrumento no tiene suficiente espacio para ejecutar un experimento. Borre los datos del experimento del disco duro del instrumento.
Network Connection (Conexión de red)	La conexión a la ubicación especificada de la carpeta de resultados se ha interrumpido. Aunque la comprobación tiene la etiqueta Network Connection (Conexión de red), el sistema comprueba la conexión a cualquier ubicación especificada de la carpeta de resultados en un servidor, un disco duro externo o la unidad local. Compruebe el estado de la conexión con la ubicación de la carpeta de resultados especificada.
Network Disk Space (Espacio de disco de la red)	La ubicación especificada de la carpeta de resultados está llena. Aunque la comprobación tiene la etiqueta Network Disk Space (Espacio de disco de la red), el sistema comprueba cualquier ubicación especificada de la carpeta de resultados en un servidor, un disco duro externo o el disco duro local. Libere espacio en el disco de la ubicación de la carpeta de resultados especificada.
Temperatura	Acción recomendada
Temperature ramp (Rampa de temperatura)	Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.
Temperature Sensors (Sensores de temperatura)	Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.
Fans (Ventiladores)	Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.
Sistema de adquisición de imágenes	Acción recomendada
Imaging Limits (Límites de adquisición de imágenes)	Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.
Z Steps-and-Settle (Pasos y asentamiento de la platina Z)	Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.
Tasa de errores de bits	Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.
Flow Cell Registration (Registro de la celda de flujo)	Es posible que la celda de flujo no esté bien colocada. <ul style="list-style-type: none"> • En las pantallas de configuración del experimento, seleccione Back (Atrás) para volver al paso de la celda de flujo. • Descargue y vuelva a cargar la celda de flujo para asegurarse de que esté bien colocada.
Administración de reactivos	Acción recomendada
Valve Response (Respuesta de la válvula)	Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.
Pump (Bomba)	Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Espacio de disco duro

El disco duro del ordenador del instrumento admite unos 45 experimentos basados en datos generados a partir de un experimento con los siguientes parámetros de experimento:

- ▶ Se necesitan aproximadamente 5 o 6 GB de espacio para un experimento "paired-end" de 150 ciclos.
- ▶ Se necesitan 10 GB de espacio adicionales para los archivos de análisis cuando se utiliza el módulo de análisis de resecuenciación de Local Run Manager.

Para cada experimento realizado, se crea una carpeta de experimento provisional como parte de la operación de software. A medida que los archivos se escriben en la carpeta de experimento provisional, los archivos se copian a la carpeta de resultados. Por lo tanto, si especifica una ubicación de la carpeta de resultados en el disco duro del experimento, se escriben dos copias de ese experimento en el disco duro. El software guarda las tres carpetas del experimento más recientes.

Al utilizar el software Local Run Manager para el análisis, los archivos provisionales, de forma predeterminada, no se eliminan. La política de conservación se define de forma manual desde la pantalla System Settings (Configuración del sistema) de Local Run Manager.

Finalmente, los archivos provisionales pueden llenar el espacio del disco duro. Sopesese utilizar una ubicación de red para los datos de experimento y configurar una política de conservación de Local Run Manager razonable, basada en el número de experimentos que realiza.

Errores de RTA

Para solucionar los errores de RTA, compruebe primero el registro de errores de RTA que se almacena en la carpeta RTALogs (Registros de RTA). Este archivo no está presente para los experimentos realizados con éxito. Incluya el registro de errores al notificar los problemas al servicio de asistencia técnica de Illumina.

Gestionar errores

RTA2 crea archivos de registro y los guarda en la carpeta RTALogs (Registros de RTA). Los errores se registran en un archivo de errores con formato *.tsv.

Los archivos de errores y de registro siguientes se transfieren a la ubicación de destino de los resultados finales tras completar el procesamiento:

- ▶ *GlobalLog*.tsv contiene un resumen de los eventos importantes del experimento.
- ▶ *LaneNLog*.tsv enumera los eventos de procesamiento. N siempre es 1 en una celda de flujo de MiniSeq.
- ▶ *Error*.tsv enumera los errores que se han producido durante un experimento.
- ▶ *WarningLog*.tsv enumera las advertencias que se han producido durante un experimento.

Flujo de trabajo de la rehibridación

Es posible que se deba realizar un experimento de rehibridación si los criterios de medición generados durante los primeros ciclos muestran intensidades por debajo de 2500. Algunas bibliotecas con poca diversidad pueden mostrar intensidades por debajo de 1000, lo que es previsible y no se puede resolver con la rehibridación.



NOTA

El comando End Run (Finalizar experimento) es definitivo. No es posible reanudar el experimento, no se pueden reutilizar los consumibles del experimento y tampoco se guardan los datos de secuenciación del experimento.

Cuando finalice un experimento y guarde la celda de flujo, el software realizará los pasos siguientes antes de que el experimento finalice:

- ▶ Coloca la celda de flujo en un estado seguro.
- ▶ Desbloquea la RFID de la celda de flujo para un experimento posterior.
- ▶ Asigna una fecha de caducidad de rehibridación a la celda de flujo.

- ▶ Escribe los registros del experimento para los ciclos realizados. Suele producirse un retraso.
- ▶ Omite el lavado automático posterior al experimento.

Cuando inicie un experimento de rehibridación, el software realizará los pasos siguientes para llevar a cabo el experimento:

- ▶ Crea una carpeta de experimento con un nombre basado en un nombre único del experimento.
- ▶ Comprueba que la fecha de rehibridación de la celda de flujo no haya caducado.
- ▶ Ceba los reactivos. Suele producirse un retraso.
- ▶ Se salta el paso de generación de grupos.
- ▶ Elimina el cebador de lectura 1 anterior.
- ▶ Hibrida un cebador de lectura 1 nuevo.
- ▶ Continúa con la lectura 1 y el resto del experimento según los parámetros del experimento especificados.

Puntos para finalizar un experimento de rehibridación

La posterior rehibridación solo es posible si finaliza el experimento en los puntos siguientes:

- ▶ **Después del ciclo 5:** las intensidades aparecen tras el registro de la cadena molde, para lo que son necesarios los primeros cinco ciclos de secuenciación. Aunque es seguro finalizar un experimento después del ciclo 1, se recomienda finalizarlo después del ciclo 5. No finalice un experimento durante la generación de grupos.
- ▶ **Lectura 1 o lectura de índice 1:** finalice el experimento *antes* de iniciar la resíntesis "paired-end". La celda de flujo no se puede guardar para la posterior rehibridación una vez iniciada la resíntesis "paired-end".

Consumibles necesarios

Un experimento de rehibridación requiere un cartucho de reactivo MiniSeq nuevo, independientemente de cuándo se detuvo el experimento.

Finalización del experimento actual

- 1 Seleccione **End Run** (Finalizar experimento). Cuando se le pregunte si quiere confirmar el comando, seleccione **Yes** (Sí).
- 2 Cuando se le pregunte si quiere guardar la celda de flujo, seleccione **Yes** (Sí). Tenga en cuenta la fecha de caducidad para la rehibridación.
- 3 Retire la celda de flujo guardada y resérvela a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C hasta que esté listo para configurar el experimento de rehibridación.



NOTA

Puede almacenar la celda de flujo hasta siete días a una temperatura de entre 2 y 8 °C en el contenedor de la celda de flujo con el tapón cerrado. Para obtener los mejores resultados, rehibride la celda de flujo guardada en tres días.

Realización de un lavado manual

- 1 En la pantalla Home (Inicio), seleccione **Perform Wash** (Realizar lavado).
- 2 En la pantalla Wash Selection (Selección de lavado), seleccione **Manual Post-Run Wash** (Lavado manual posterior al experimento). Consulte *Realización de un lavado manual del instrumento en la página 28*.



NOTA

Si todavía no ha extraído el cartucho de reactivo del experimento detenido, puede utilizarlo para el lavado manual. De lo contrario, realice el lavado manual con el cartucho de lavado.

Configuración de un experimento en el instrumento

- 1 Prepare un cartucho de reactivo nuevo.
- 2 Si se ha almacenado la celda de flujo guardada, deje que alcance la temperatura ambiente (15-30 minutos).
- 3 Limpie y cargue la celda de flujo guardada.
El sistema lee la identificación de radiofrecuencia (RFID) de la celda de flujo como una celda de flujo guardada y confirma una fecha de rehibridación válida.
- 4 Extraiga la botella de reactivos usados y deseche el contenido de manera adecuada y, a continuación, vuelva a cargar el contenedor vacío.
- 5 Cargue el nuevo cartucho de reactivo.
- 6 En la pantalla Run Setup (Configuración del experimento), seleccione una de las siguientes opciones:
 - ▶ **Configuración de Local Run Manager:** seleccione el experimento y confirme los parámetros del experimento.
 - ▶ **Configuración manual:** introduzca el nombre del experimento y especifique los mismos parámetros que en el experimento original.
- 7 Seleccione **Next** (Siguiendo) para continuar con la comprobación previa al experimento e inicie el experimento.

Comprobación del sistema

No se precisa ejecutar ninguna comprobación del sistema para el funcionamiento normal o el mantenimiento del instrumento. No obstante, un representante del servicio de asistencia técnica de Illumina puede solicitarle que ejecute una comprobación del sistema para solucionar posibles problemas.

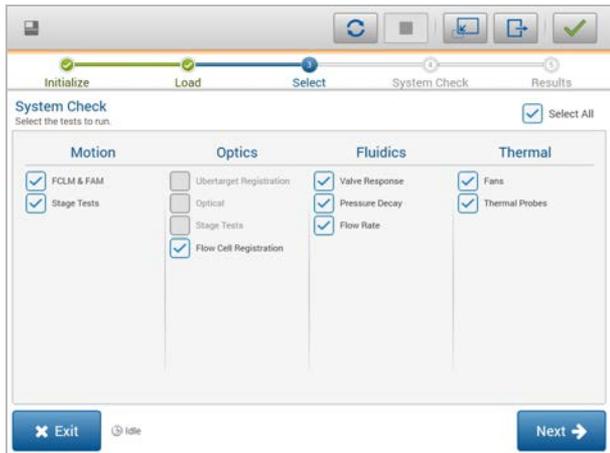


NOTA

Si se debe realizar un lavado del instrumento, realícelo antes de iniciar una comprobación del sistema.

Al iniciar una comprobación del sistema, el software de control se cierra automáticamente y se inicia el software de servicio de MiniSeq. El software de servicio se inicia y se abre la pantalla Load (Cargar), que está configurada para utilizar la opción de carga avanzada.

Figura 29 Comprobaciones del sistema disponibles

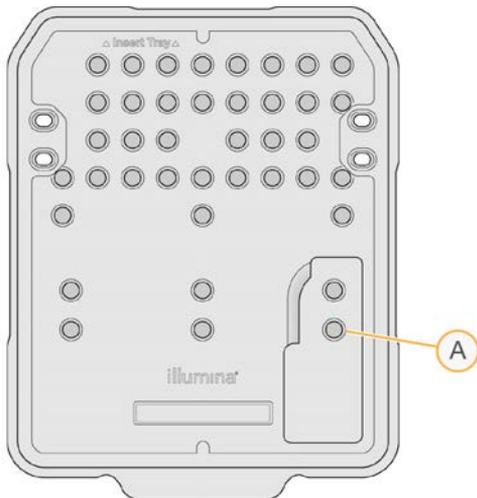


Después de cargar los consumibles, se abre la pantalla Select (Seleccionar), que muestra las comprobaciones del sistema que están disponibles. Las casillas de verificación desactivadas de la pantalla Select (Seleccionar) indican pruebas que requieren la asistencia de un representante del servicio de campo de Illumina.

Realizar una comprobación del sistema

- 1 En la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento), seleccione **System Check** (Comprobación del sistema). Cuando se le solicite cerrar el software de control, seleccione **Yes** (Sí).
- 2 Añada 40 ml de agua desionizada al cartucho de lavado.
El depósito correcto es equivalente a la posición n.º 40 en el cartucho de reactivo precargado.

Figura 30 Posición de la solución de lavado



A Solución de lavado

- 3 Cargue los consumibles como se describe a continuación:
 - a Si todavía no hay ninguna celda de flujo usada en el instrumento, cargue una.

- b Vacíe la botella de reactivos usados y vuelva a colocarla en el instrumento.
 - c Cargue el cartucho de lavado.
- 4 Seleccione **Load** (Cargar).
El software mueve la celda de flujo y el cartucho de lavado a su posición.
 - 5 Seleccione **Next** (Siguiente). Se inicia la comprobación del sistema.
 - 6 **[Opcional]** Cuando haya finalizado la comprobación del sistema, seleccione **View** (Visualizar) junto al nombre de comprobación para visualizar los valores asociados a cada comprobación.
 - 7 Seleccione **Next** (Siguiente).
Se abre el informe de comprobación del sistema.
 - 8 Seleccione **Save** (Guardar) para guardar el informe en un archivo comprimido. Vaya a una ubicación de red para guardar el archivo.
 - 9 Cuando termine, seleccione **Exit** (Salir).
 - 10 Cuando se le solicite cerrar el software de servicio y reiniciar el software de control, seleccione **Yes** (Sí).
El software de control se reinicia automáticamente.

Comprobaciones de movimiento

Comprobación del sistema	Descripción
FCLM y FAM	Comprueba la mejora y la distancia del mecanismo de carga de la celda de flujo (FCLM) y el módulo de automatización de fluidica (FAM) para confirmar que los módulos funcionan correctamente.
Stage Tests (Pruebas de platina)	Comprueba los límites de recorrido y rendimiento de la platina XY y la platina Z.

Comprobación del sistema óptico

Comprobación del sistema	Descripción
Flow Cell Registration (Registro de la celda de flujo)	Mide la inclinación de la celda de flujo en un plano óptico, comprueba la función de la cámara, comprueba el módulo de adquisición de imágenes y verifica el registro de la celda de flujo en la posición correcta de adquisición de imágenes.

Comprobaciones de la fluidica

Comprobación del sistema	Descripción
Valve Response (Respuesta de la válvula)	Comprueba la precisión de los movimientos de la válvula y la bomba, así como la amplitud de movimiento de la jeringa de la bomba.
Pressure Decay (Caída de la presión)	Comprueba la tasa de fuga de un sistema de fluidica con cierre, que confirma que la celda de flujo está bien montada en la posición de secuenciación.
Flow Rate (Velocidad de flujo)	Comprueba el funcionamiento de los sensores de burbujas, que se utilizan para detectar la presencia de aire en los conductos de reactivo. Mide la velocidad de flujo para detectar oclusiones o fugas.

Comprobaciones térmicas

Comprobación del sistema	Descripción
Fans (Ventiladores)	Comprueba la velocidad de los ventiladores del sistema en pulsos por minuto (PPM) para confirmar que los ventiladores funcionan. Los ventiladores que no funcionan devuelven un valor negativo.
Thermal Probes (Sondas térmicas)	Comprueba la temperatura media de cada sensor térmico. Los sensores térmicos que no funcionan devuelven un valor negativo.

Ajustes de configuración de red

Los ajustes de red se configuran durante la instalación. Si el sistema se debe reconfigurar, puede cambiar o restablecer los ajustes en la pantalla Network Configuration (Configuración de red). Entre los ajustes de configuración se incluyen la dirección IP, la dirección del servidor de nombres de dominio (DNS) y el nombre de dominio.



NOTA

Para cambiar estos ajustes, debe iniciar sesión como administrador del sistema operativo de Windows.

Ajuste de la configuración de red

- 1 En la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento), seleccione **System Configuration** (Configuración del sistema).
- 2 Seleccione **Network configuration** (Configuración de red).
- 3 Seleccione **Obtain an IP address automatically** (Obtener una dirección IP de forma automática) para obtener la dirección IP mediante el uso del servidor DHCP.



NOTA

El protocolo de configuración de host dinámico (DHCP, Dynamic Host Configuration Protocol) es un protocolo de red estándar que se utiliza en redes IP para distribuir de forma dinámica los parámetros de configuración de la red.

Por otra parte, también puede seleccionar **Use the following IP address** (Utilizar la dirección IP siguiente) para conectar el instrumento a otro servidor de forma manual, como se indica a continuación. Póngase en contacto con el administrador de su red para obtener las direcciones específicas del centro.

- ▶ Introduzca una dirección IP. La dirección IP es una serie de cuatro números separados por un punto, similar a 168.62.20.37, por ejemplo.
- ▶ Introduzca la máscara de subred, que es una subdivisión de la red IP.
- ▶ Introduzca la puerta de enlace predeterminada, que es el enrutador de la red que se conecta a Internet.

- 4 Seleccione **Obtain a DNS server address automatically** (Obtener una dirección de servidor DNS de forma automática) para conectar el instrumento al servidor de nombres de dominio asociado con la dirección IP.

De forma alternativa, seleccione **Use the following DNS server addresses** (Utilizar las siguientes direcciones de servidor DNS) para conectar el instrumento al servidor de nombres de dominio manualmente del modo siguiente.

- ▶ Introduzca la dirección DNS deseada. La dirección DNS es el nombre del servidor utilizado para traducir nombres de dominio en direcciones IP.
- ▶ Introduzca la dirección DNS alternativa. La dirección alternativa se utiliza si la DNS no puede traducir un nombre de dominio concreto en una dirección IP.

5 Seleccione **Save** (Guardar).

Configuración del dominio del ordenador



NOTA

El nombre del ordenador del instrumento se asigna al ordenador del instrumento en el momento de su fabricación. Cualquier cambio realizado en el nombre del ordenador puede afectar a la conectividad y requerir un administrador de red.

- 1 Conecte el ordenador del instrumento a un dominio o grupo de trabajo, como se explica a continuación.
 - ▶ **Para instrumentos conectados a Internet:** seleccione **Member of domain** (Miembro del dominio) y, a continuación, introduzca el nombre de dominio asociado a la conexión a Internet de su centro.



NOTA

Los cambios de dominio requieren un nombre y contraseña de usuario de administrador.

- ▶ **Para instrumentos no conectados a Internet:** seleccione **Member of work group** (Miembro del grupo de trabajo) y, a continuación, introduzca el nombre del grupo de trabajo. El nombre del grupo de trabajo es exclusivo de su centro.

2 Seleccione **Save** (Guardar).

Genomas personalizados

Puede cargar su propia referencia en formato FASTA en el ordenador del instrumento. Puede cargar varios archivos FASTA individuales o un solo archivo multi-FASTA (recomendado), pero no una combinación de ambos.

Para resolver los problemas con un archivo de genoma personalizado, confirme los requisitos siguientes.

- 1 Asegúrese de que el archivo utilice una extensión *.fa o *.fasta y se almacene en una carpeta específica para las referencias.
- 2 Asegúrese de que el nombre del cromosoma no contenga ninguno de los caracteres siguientes:
- ? () [] / \ = + < > : ; " ' , * ^ | &

Para obtener los mejores resultados, utilice solo caracteres alfanuméricos como nombres de cromosomas.

Apagado del instrumento

En condiciones normales, no existen motivos para apagar el instrumento.

- 1 Seleccione **Manage Instrument** (Administrar instrumento).
- 2 Seleccione **Shutdown Options** (Opciones de apagado).
- 3 Seleccione **Shut Down** (Apagar).

El comando de apagar cierra el software de forma segura y apaga la alimentación del instrumento.

Espere al menos 60 segundos antes de volver a encender el instrumento. Es necesario realizar un lavado antes del siguiente experimento de secuenciación.



PRECAUCIÓN

No cambie la posición del instrumento. Si lo mueve de forma incorrecta, la alineación óptica podría verse afectada y comprometer la integridad de los datos. Si debe cambiar la posición del instrumento, póngase en contacto con su representante de Illumina.

Apéndice B Análisis en tiempo real

Descripción general de Real-Time Analysis (Análisis en tiempo real)	46
Archivos de entrada y resultados	46
Flujo de trabajo de análisis en tiempo real	47

Descripción general de Real-Time Analysis (Análisis en tiempo real)

Real-Time Analysis (Análisis en tiempo real) es un software que se ejecuta en el ordenador del instrumento, extrae las intensidades de las imágenes para efectuar la llamada de bases y, a continuación, asigna una puntuación de calidad a la llamada de bases.

El sistema MiniSeq utiliza una implementación de Real-Time Analysis (Análisis en tiempo real) denominada RTA2. El software de control del sistema y RTA2 se comunican a través de una interfaz web HTTP y archivos de memoria compartidos. Si RTA2 se interrumpe, el procesamiento no se reanuda y los datos del experimento no se guardan.

Archivos de entrada y resultados

Archivos de entrada

El software de análisis en tiempo real requiere la siguiente información para su procesamiento:

- ▶ Las imágenes de las placas contenidas en la memoria del sistema local.
- ▶ **RunInfo.xml**, que se genera de forma automática al comienzo del experimento y proporciona el nombre del experimento, el número de ciclos, el dato de si se ha indexado una lectura y el número de placas en la celda de flujo.

El software de análisis en tiempo real recibe comandos del software de control que indican la ubicación de **RunInfo.xml** y si se ha especificado una carpeta de resultados opcional.

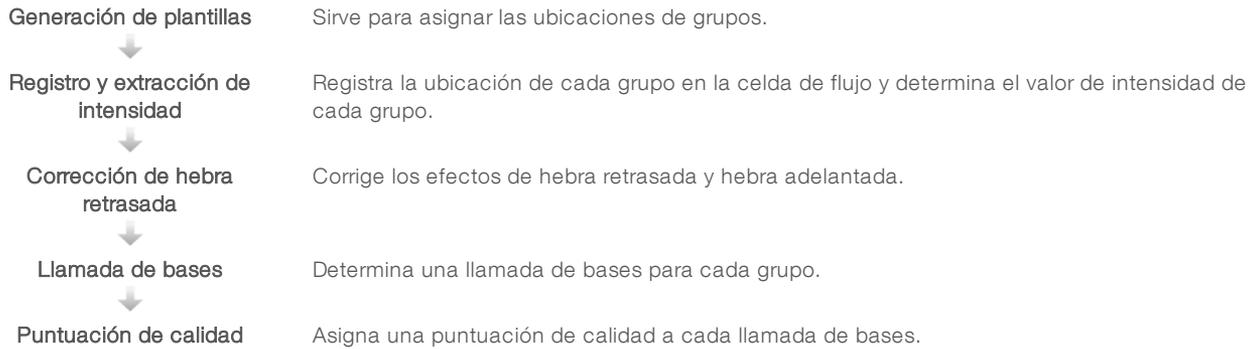
Archivos de resultados

Las imágenes de cada canal se transfieren en memoria como placas. Las placas son pequeñas áreas de adquisición de imágenes en la celda de flujo definidas como el campo de visión por la cámara. A partir de estas imágenes, el software produce un resultado en forma de conjunto de archivos de filtro y archivos de llamadas de bases con puntuación de calidad. Los archivos de resultados se utilizan para realizar análisis sucesivos en BaseSpace o mediante módulos de análisis de Local Run Manager.

Tipo de archivo	Descripción
Archivos de llamadas de bases	Cada placa analizada se incluye en un archivo de llamadas de bases (*.bcl) agregado para cada carril y para cada ciclo. El archivo de llamadas de bases agregado contiene la llamada de bases y la puntuación de calidad asociada para cada grupo en ese carril.
Archivos de filtro	Cada placa produce información de filtro que se agrega a un archivo de filtro (*.filter) para cada carril. El archivo de filtro especifica si un grupo ha superado los filtros.
Archivos de ubicación de grupos	Los archivos de ubicación de grupos (*.locs) contienen las coordenadas X e Y para cada grupo en una placa. Durante la generación de plantillas, se genera un archivo de ubicación de grupos para cada carril.
Archivos de índice de llamadas de bases	Se produce un archivo de índice de llamada de bases (*.bci) para cada carril con el fin de preservar la información de placa original. El archivo de índice contiene un par de valores para cada placa, que son el número de placa y el número de grupos para esa placa.

RTA2 proporciona criterios de medición en tiempo real de experimentos de calidad guardados como archivos InterOp. Los archivos InterOp son archivos de resultados binarios que contienen criterios de medición relacionados con placas, ciclos y lecturas, y se utilizan para la visualización de criterios de medición en tiempo real con el software del visor del análisis de secuenciación.

Flujo de trabajo de análisis en tiempo real



Generación de plantillas

El primer paso del flujo de trabajo de RTA es la generación de plantillas, que define la posición de cada grupo en una placa mediante el uso de las coordenadas X e Y.

La generación de plantillas requiere datos de imagen de los primeros cinco ciclos del experimento. Tras el último ciclo de la plantilla para la adquisición de imágenes de una placa, se genera la plantilla.



NOTA

Para detectar un grupo durante la generación de plantillas, debe haber como mínimo una base distinta de G en los primeros **cinco** ciclos.

La plantilla se utiliza como referencia para el siguiente paso de registro y extracción de intensidad. Las posiciones de los grupos para el conjunto de la celda de flujo se escriben en archivos de ubicación de grupos (*.locs), uno para cada carril.

Registro y extracción de intensidad

El registro y la extracción de intensidad comienza después de la generación de plantillas.

- ▶ El registro alinea imágenes producidas durante cada ciclo de adquisición de imágenes posterior en relación con la plantilla.
- ▶ La extracción de intensidad determina un valor de intensidad para cada grupo de la plantilla para una imagen determinada.

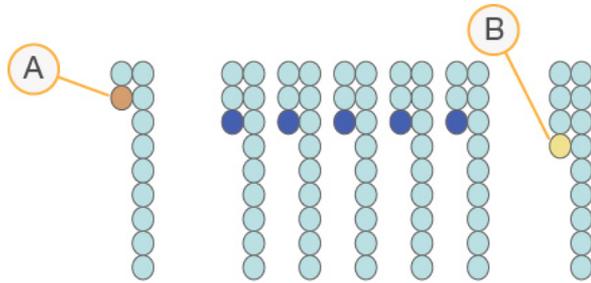
Si se produce un error en el registro de cualquier imagen en un ciclo, no se extraerá ninguna intensidad y todas las bases se llamarán N para esa placa en ese ciclo. Utilice el software del visor del análisis de secuenciación para identificar las placas y los ciclos que no han conseguido efectuar el registro. Los fallos de registro se identifican fácilmente como placas y ciclos que tienen un 0 en la columna P90 en la ficha Imaging (Adquisición de imágenes).

Corrección de hebra retrasada

Durante la reacción de secuenciación, cada cadena de ADN de un grupo se amplía en una base por cada ciclo. Las hebras retrasadas y hebras adelantadas se producen cuando una cadena queda fuera de su lugar con respecto al ciclo de incorporación actual.

- ▶ La hebra retrasada se produce cuando una base se atrasa.
- ▶ La hebra adelantada se produce cuando una base se adelanta.

Figura 31 Hebra retrasada y hebra adelantada



- A Lectura con una base con hebra retrasada
- B Lectura con una base con hebra adelantada

RTA2 corrige los efectos de la hebra retrasada y adelantada, lo que aumenta al máximo la calidad de los datos en cada uno de los ciclos del experimento.

Llamada de bases

La llamada de bases determina una base (A, C, G o T) para cada grupo de una placa determinada en un ciclo específico. El sistema MiniSeq utiliza secuenciación de dos canales, que precisa solo dos imágenes para codificar los datos de cuatro bases de ADN, una del canal rojo y una del canal verde.

Las intensidades extraídas de una imagen en comparación con otra imagen redundan en cuatro poblaciones distintas, cada una de las cuales corresponde a un nucleótido. El proceso de llamada de bases determina a qué población pertenece cada grupo.

Figura 32 Visualización de intensidades de grupos

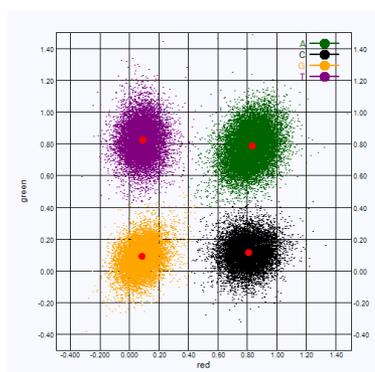


Tabla 1 Llamada de bases en secuenciación de dos canales

Base	Canal rojo	Canal verde	Resultado
A	1 (encendido)	1 (encendido)	Los grupos que presentan intensidad en el canal rojo y verde.
C	1 (encendido)	0 (apagado)	Los grupos que presentan intensidad solo en el canal rojo.
G	0 (apagado)	0 (apagado)	Los grupos que no presentan intensidad en una ubicación conocida.
T	0 (apagado)	1 (encendido)	Los grupos que presentan intensidad solo en el canal verde.

Grupos que superan el filtro

Durante el experimento, RTA2 filtra las incidencias para eliminar los grupos que no satisfagan el umbral de calidad de datos.

En el caso del análisis de dos canales, RTA2 utiliza un sistema basado en la población para determinar la castidad de una llamada de bases. Los grupos que superan el filtro (PF), si no hay más de una llamada de bases en los primeros 25 ciclos, tienen un valor de castidad inaceptable. En los grupos que no superan el filtro, no se realiza la llamada de bases en los ciclos posteriores.

Consideraciones sobre el indexado

El proceso de llamada de bases de las lecturas del índice difiere de la llamada de bases durante otras lecturas.

Las lecturas del índice deben comenzar, al menos, con una base diferente de G en cualquiera de los dos primeros ciclos. Si una lectura del índice comienza con dos llamadas de bases G, no se genera ninguna intensidad de señal. La señal debe estar presente en cualquiera de los dos primeros ciclos para garantizar el rendimiento del demultiplexado.

Para aumentar la solidez del demultiplexado, seleccione secuencias de índices que proporcionen señal en al menos un canal, preferiblemente los dos canales, por cada ciclo. Al seguir estas directrices, se evitan las combinaciones de índices que solo dan lugar a bases G en cualquier ciclo.

- ▶ Canal rojo: A o C
- ▶ Canal verde: A o T

Este proceso de llamada de bases garantiza la precisión al analizar muestras de bajo plexado.

Puntuación de calidad

Una puntuación de calidad, o puntuación Q, es una predicción de la probabilidad de obtener una llamada de bases incorrecta. Una puntuación Q superior implica que la llamada de bases tiene una calidad mayor y es más probable que sea correcta.

La puntuación Q es una forma concisa de comunicar probabilidades de error pequeñas. Q(X) representa puntuaciones de calidad, donde X es la puntuación. En la siguiente tabla, figura la relación entre la puntuación de calidad y la probabilidad de error.

Puntuación Q, Q(X)	Probabilidad de error
Q40	0,0001 (1 entre 10 000)
Q30	0,001 (1 entre 1000)
Q20	0,01 (1 entre 100)
Q10	0,1 (1 entre 10)



NOTA

La puntuación de calidad se basa en una versión modificada del algoritmo Phred.

Para la puntuación de calidad, se calcula un conjunto de predictores para cada llamada de bases y, a continuación, se utilizan los valores de los predictores para determinar la puntuación Q en la tabla de calidad. Las tablas de calidad se crean para proporcionar predicciones de calidad con una precisión óptima de experimentos generados mediante una configuración específica de la plataforma de secuenciación y una versión de composición química concreta.

Tras determinar la puntuación Q, los resultados se registran en archivos de llamada de bases.

Apéndice C Archivos de resultados

Archivos de resultados

Archivos de resultados de secuenciación	52
Estructura de carpetas de resultados de secuenciación	53
Requisitos del archivo de entrada de análisis	53

Archivos de resultados de secuenciación

Tipo de archivo	Descripción, ubicación y nombre del archivo
Archivos de llamadas de bases	Cada placa analizada se incluye en un archivo de llamadas de bases, agregado en un archivo para cada ciclo. El archivo agregado contiene la llamada de bases y la puntuación de calidad codificada para cada grupo. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [Ciclo].bcl.bgzf, donde [Ciclo] representa el número de ciclo en cuatro dígitos. Los archivos de llamadas de bases se comprimen mediante el uso de la compresión de bloques gzip.
Archivo de índice de llamadas de bases	Un archivo de índice binario recopila la información de placas original en un par de valores para cada placa, que son el número de placa y el número de grupos para la placa. Los archivos de índice de llamadas de bases se generan al crear por primera vez un archivo de llamadas de bases. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[Carril].bci
Archivos de ubicación de grupos	Para cada placa, las coordenadas X e Y para cada grupo se agregan a un archivo de ubicación de grupos. Los archivos de ubicación de grupos son el resultado de la generación de plantillas. Data\Intensities\L001 s_[carril].locs
Archivos de filtro	El archivo de filtro especifica si los grupos han superado los filtros. La información de filtro se agrega a un archivo de filtro para cada lectura. Estos archivos se generan en el ciclo 26 mediante el uso de 25 ciclos de datos. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[carril].filter
Archivos InterOp	Archivos binarios de informes utilizados por el Visor del análisis de secuenciación. Los archivos InterOp se actualizan durante el experimento. Carpeta InterOp
Archivo de configuración de RTA	Creado al inicio del experimento, el archivo de configuración de RTA contiene los parámetros de configuración del experimento. [Carpeta raíz], RTAConfiguration.xml
Archivo de información del experimento	Indica el nombre del experimento, el número de ciclos de cada lectura, si la lectura es una Lectura del índice, y el número de sectores y placas de la celda de flujo. El archivo de información del experimento se crea al inicio del experimento. [Carpeta raíz], RunInfo.xml

Estructura de carpetas de resultados de secuenciación

El software de control genera el nombre de la carpeta de resultados de forma automática.

📁 **Configs**

📁 **Data (Datos)**

📁 **Intensities (Intensidades)**

📁 **BaseCalls (Llamada de bases)**

📁 **L001**: archivos de llamada de bases, agregados por ciclo

📁 **L001**: un archivo *.locs agregado

📁 **Images (Imágenes)**

📁 **Focus (Enfoque)**

📁 **L001**: imágenes de enfoque

📁 **InstrumentAnalyticsLogs**: archivos de registro que describen los pasos del análisis del instrumento

📁 **InterOp**: archivos binarios utilizados por el visor del análisis de secuenciación

📁 **Logs (Registros)**: archivos de registro que describen los pasos operativos

📁 **Recipe (Fórmula)**: archivo de la fórmula específico del experimento con el nombre del ID del cartucho de reactivo

📁 **RTALogs (Registros de RTA)**: archivos de registro que describen los pasos del análisis

📄 RTAComplete.xml

📄 RTAConfiguration.xml

📄 RunInfo.xml

📄 RunNotes.xml

📄 RunParameters.xml

Requisitos del archivo de entrada de análisis

Local Run Manager requiere los siguientes archivos generados durante el experimento de secuenciación para llevar a cabo el análisis o volver a ponerlo en cola. Algunos módulos de análisis precisan archivos de entrada adicionales para realizar el análisis. Para obtener más información, consulte la guía de flujo de trabajo del módulo de análisis que está utilizando.

Nombre de archivo/Tipo	Descripción
RTAComplete.txt	Un archivo de marcador que indica que el procesamiento de RTA ha finalizado. La presencia de este archivo activa Local Run Manager para que ponga en cola el análisis.
RunInfo.xml	Contiene información del experimento de alto nivel, como el número de lecturas y ciclos en el experimento de secuenciación, y si se ha indexado o no una lectura.
Archivos de llamada de bases (*.bcl)	Contiene la llamada de bases y la puntuación de calidad codificada para todos los grupos de cada placa, agregados en un archivo para cada ciclo.
Archivos de filtro (*.filter)	Especifica si un grupo ha superado los filtros. La información de filtro se agrega a un archivo de filtro para cada lectura.
Archivos de ubicación de grupos (*.locs)	Contiene las coordenadas X e Y para todos los grupos de cada placa, agregados en un archivo de ubicación de grupos

Índice alfabético

A

- abrazadera de la celda de flujo 2
- actualización del software 31
- administrar instrumento
 - apagado 43
- adquisición de imágenes de dos canales 48
- adquisición de imágenes, secuenciación de dos canales 48
- ajustes de configuración 42
- alertas de estado 4
- algoritmo Phred 49
- análisis
 - archivos de resultados 52
 - software 4
- análisis, principal
 - pureza de la señal 49
- apagado del instrumento 43
- archivos
 - de filtros 52
 - de llamadas de bases 52
 - de resultados 52
 - de resultados, secuenciación 52
 - InterOp 34, 52
 - locs 52
- archivos de registro
 - GlobalLog 37
 - LaneNLog 37
- asistencia al cliente 57
- ayuda
 - técnica 57

B

- barra de estado 2
- base de datos dbSNP 7
- base de datos miRbase 7
- base de datos RefGene 7
- bases de datos, preinstaladas 7
- BaseSpace 1
 - iconos de transferencia 25
- botón de encendido 8
- botón de encendido/apagado 4

C

- cartucho de reactivo
 - depósito n.º 28 29
 - descripción general 6

- preparación 13
- celda de flujo
 - descripción general 5
 - preparación 13
 - rehibridación 37
 - tipos 1
- ciclos en una lectura 13
- compartimento de adquisición de imágenes 2
- compartimento de la celda de flujo 2
- compartimento de reactivos 2
- compatibilidad
 - celda de flujo, cartucho de reactivo 5
 - seguimiento de RFID 5-6
- componentes
 - barra de estado 2
 - compartimento de adquisición de imágenes 2
 - compartimento de la celda de flujo 2
 - compartimento de reactivos 2
- comprobación del sistema 39
- comprobación previa al experimento 19, 23
- configuración de análisis 15
- configuración del experimento, opción avanzada 9
- configuración manual 15
- consideraciones sobre el indexado 49
- consumibles
 - agua de laboratorio 11
 - cartucho de reactivo 6
 - celda de flujo 5
 - consumibles de lavado 28-29
 - experimentos de secuenciación 11
 - mantenimiento del instrumento 11
 - proporcionados por el usuario 11
 - reactivos
 - suministrado en kit 5
- consumibles proporcionados por el usuario 11
- consumibles suministrados por el usuario 11
- contraseña y nombre de usuario del sistema 8
- criterios de medición
 - ciclos de densidad de grupos 24
 - ciclos de intensidad 24
 - de experimento 24

D

- directrices para el agua de laboratorio 11
- documentación 1, 57
- duración del experimento 12

E

- errores
 - comprobación previa al experimento 35
 - iconos de estado 4
 - probabilidad 49
- errores y advertencias
 - archivos de resultados 37
- espacio de disco duro 36

F

- filtro de castidad 49
- flujo de trabajo
 - cartucho de reactivo 13, 17, 21
 - comprobación previa al experimento 19, 23
 - configuración de análisis 15
 - consideraciones sobre el indexado 49
 - criterios de medición del experimento 24
 - duración del experimento 12
 - hipoclorito de sodio 29
 - opción de carga avanzada 9
 - reactivos usados 18, 22
 - secuenciación 47
- flujo de trabajo de secuenciación 47
- flujodetrabajo
 - modo manual 15
- formación 1
- formamida, posición 6 26

G

- generación de plantillas 47
- genomas de referencia
 - formato de archivo 7
 - genomas personalizados 43
 - preinstalados 7
- grupos que superan el filtro 49

H

- hebras adelantadas 48
- hebras retrasadas 48
- hipoclorito de sodio, lavado 29

I

- iconos
 - errores y advertencias 4

- estado 4
- instrumento
 - ajustes de configuración 42
 - botón de encendido/apagado 4
 - puesta en servicio 8
- intensidades 48
- interruptor de encendido 8

L

- lavado
 - automático 25
 - componentes de lavado 28
 - consumibles suministrados por el usuario 28
 - instrumento 28
 - manual 28
- lavado posterior al experimento 25
- llamada de bases
 - consideraciones sobre el indexado 49
 - dos canales 48
- Local Run Manager 4
- longitud de lectura 12-13

M

- mantenimiento del instrumento
 - consumibles 11
 - preventivo 28
- medición
 - llamada de bases 48

N

- nombre de usuario y contraseña del sistema 8

O

- opción de carga avanzada 9

P

- páginas de asistencia 1
- parametros del experimento
 - modo manual 15
- prevención, mantenimiento 28
- problemas técnicos, asistencia 57
- puntuaciones Q 49
- purgar consumibles 9

R

- reactivos usados
 - desecho correcto 17, 21, 30
 - eliminación 18, 22
- rehibridación del cebador 37
- rehibridación, Lectura 1 37
- RTA v2
 - descripción general 46
 - interrupción 46
- RTA2
 - gestión de errores 37
- RunInfo.xml 34, 52

S

- seguimiento de RFID 5
- Sequencing Analysis Viewer 12
- servicio de copia universal 25
- software
 - actualización automática 32
 - actualización manual 32
 - ajustes de configuración 42
 - análisis 4
 - análisis de imágenes, llamada de bases 4
 - comprobar actualizaciones 10
 - control del instrumento 4
 - duración del experimento 12
 - inicialización 8
- software de análisis en tiempo real 1, 4
 - resultados 52
- software de control 4
- solución de problemas
 - archivos específicos del experimento 34
 - comprobación del sistema 39
 - comprobación previa al experimento 35
 - criterios de medición de baja calidad 37
 - espacio de disco duro 36
 - opciones de contacto 34
- superar el filtro (PF) 49

T

- tablas de calidad 49
- transferencia de datos
 - iconos de actividad 25
 - servicio de copia universal 25

U

- ubicación de archivo 15
- ubicación de grupos
 - archivos 52
 - generación de plantillas 47

Asistencia técnica

Si necesita asistencia técnica, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Sitio web: www.illumina.com
Correo electrónico: techsupport@illumina.com

Números del servicio de asistencia al cliente de Illumina

Región	Teléfono gratuito	Regional
Norteamérica	+1 800 809 4566	
Alemania	+49 8001014940	+49 8938035677
Australia	+1 800 775 688	
Austria	+43 800006249	+43 19286540
Bélgica	+32 80077160	+32 34002973
China	400 066 5835	
Corea del Sur	+82 80 234 5300	
Dinamarca	+45 80820183	+45 89871156
España	+34 911899417	+34 800300143
Finlandia	+358 800918363	+358 974790110
Francia	+33 805102193	+33 170770446
Hong Kong (China)	800 960 230	
Irlanda	+353 1800936608	+353 016 95 05 06
Italia	+39 800985513	+39 236003759
Japón	0 800 111 50 11	
Noruega	+47 800 16836	+47 21939693
Nueva Zelanda	0800451650	
Países Bajos	+31 8000222493	+31 207132960
Reino Unido	+44 8000126019	+44 2073057197
Singapur	+1 800 579 2745	
Suecia	+46 850619671	+46 200883979
Suiza	+41 565800000	+41 800200442
Taiwán (China)	0 080 665 17 52	
Otros países	+44 1799534000	

Hojas de datos de seguridad (SDS): disponibles en el sitio web de Illumina, support.illumina.com/sds.html.

Documentación del producto: disponible para su descarga de support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 (EE. UU.)

+ 1 800 809 ILMN (4566)

+ 1 858 202 4566 (fuera de Norteamérica)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

Para uso exclusivo en investigación.

Prohibido su uso en procedimientos de diagnóstico.

© 2021 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

illumina®