

MiSeqDx Instrument

Referenzhandbuch für MOS v4

Dieses Dokument und sein Inhalt sind Eigentum von Illumina, Inc. sowie deren Partner-/Tochterunternehmen („Illumina“) und ausschließlich für den bestimmungsgemäßen Gebrauch durch den Kunden in Verbindung mit der Verwendung des hier beschriebenen Produkts/der hier beschriebenen Produkte und für keinen anderen Bestimmungszweck ausgelegt. Dieses Dokument und sein Inhalt dürfen ohne schriftliches Einverständnis von Illumina zu keinem anderen Zweck verwendet oder verteilt bzw. anderweitig übermittelt, offengelegt oder auf irgendeine Weise reproduziert werden. Illumina überträgt mit diesem Dokument keinerlei Lizenzen unter seinen Patent-, Marken-, Urheber- oder Gewohnheitsrechten bzw. ähnlichen Rechten Dritter.

Die Software ist lizenziert unter den Bestimmungen und Bedingungen der Illumina Sequenzierungs-Software-Lizenzvereinbarung in einem separaten Dokument. Wenn Sie nicht mit den darin festgelegten Bestimmungen und Bedingungen einverstanden sind, lizenziert Illumina diese Software nicht an Sie und Sie dürfen die Software weder installieren noch verwenden.

Die Anweisungen in diesem Dokument müssen von qualifiziertem und entsprechend ausgebildetem Personal genau befolgt werden, damit die in diesem Dokument beschriebene Verwendung des Produkts/der Produkte sicher und ordnungsgemäß erfolgt. Vor der Verwendung dieser Produkte muss der Inhalt dieses Dokuments vollständig gelesen und verstanden worden sein.

FALLS NICHT ALLE HIERIN AUFGEFÜHRTEN ANWEISUNGEN VOLLSTÄNDIG GELESEN UND BEFOLGT WERDEN, KÖNNEN PRODUKTSCHÄDEN, VERLETZUNGEN DER BENUTZER UND ANDERER PERSONEN SOWIE ANDERWEITIGER SACHSCHADEN EINTRETEN.

ILLUMINA ÜBERNIMMT KEINERLEI HAFTUNG FÜR SCHÄDEN, DIE AUS DER UNSACHGEMÄSSEN VERWENDUNG DER HIERIN BESCHRIEBENEN PRODUKTE (EINSCHLIESSLICH TEILEN HIERVON ODER DER SOFTWARE) ENTSTEHEN, ODER JEDER ANDEREN ART DER VERWENDUNG DER PRODUKTE AUSSERHALB DES GÜLTIGKEITSBEREICHES DER AUSDRÜCKLICHEN SCHRIFTLICHEN LIZENZEN ODER DER DURCH ILLUMINA GENEHMIGTEN ZULASSUNGEN IN VERBINDUNG MIT DEM ERWERB DER PRODUKTE DURCH DEN KUNDEN.

© 2026 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Inhaber. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.

Diese Software enthält die SeqAn Bibliothek, die an Illumina lizenziert wurde und unter folgender Lizenz verteilt wird:

Copyright © 2010, Knut Reinert, FU Berlin, Alle Rechte vorbehalten. Die Weitergabe und die Verwendung des Quellcodes und des Binärformats, ob mit oder ohne Änderungen, sind gestattet, wenn die folgenden Bedingungen erfüllt sind:

Der weitergegebene Quellcode muss den obigen Urheberrechtsvermerk, diese Liste der Bedingungen und den folgenden Haftungsausschluss enthalten.

Das weitergegebene Binärformat muss den obigen Urheberrechtsvermerk, diese Liste der Bedingungen und den folgenden Haftungsausschluss in der Dokumentation und/oder in weiteren Materialien enthalten, die im Rahmen der Weitergabe bereitgestellt werden.

Weder der Name der FU Berlin, der Name „Knut Reinert“ noch die Namen seiner Mitarbeiter dürfen als Befürworter von Produkten oder zur Werbung für Produkte verwendet werden, die von dieser Software abgeleitet sind.

DIE SOFTWARE WIRD VON DEN URHEBERRECHTSINHABERN UND DEREN MITARBEITERN OHNE MÄNGELGEWÄHR GELIEFERT, OHNE GARANTIE JEDWEDER ART, WEDER AUSDRÜCKLICH NOCH IMPLIZIT, EINSCHLIESSLICH DER, ABER NICHT BESCHRÄNKT AUF DIE IMPLIZITEN GARANTIE DER MARKTGÄNGIGKEIT UND DER EIGNUNG FÜR EINEN BESTIMMTEN ZWECK. IN KEINEM FALL SIND DIE URHEBERRECHTSINHABER ODER DEREN MITARBEITER FÜR IRGENDWELCHE DIREKTEN, INDIREKTEN, BEILÄUFIG ENTSTANDENEN ODER SPEZIELLEN SCHÄDEN, SCHADENERSATZFORDERUNGEN MIT STRAFZWECK ODER FOLGESCHÄDEN HAFTBAR (DIES GILT INSBESONDERE FÜR DIE BESCHAFFUNG VON ERSATZGÜTERN ODER -DIENSTLEISTUNGEN, NUTZUNGS-AUSFALL, DATENVERLUST, ENTGANGENE GEWINNE ODER GESCHÄFTS-UNTERBRECHUNGEN), GANZ GLEICH, WIE DIESE VERURSACHT WURDEN UND WELCHER HAFTUNGSTHEORIE SIE UNTERLIEGEN, SEI DIES VERTRAGS-, GEFÄHRDUNGS- ODER DELIKTHAFTUNG (EINSCHLIESSLICH FAHRLÄSSIGKEIT ODER SONSTIGES), DIE AUF IRGEND EINE WEISE DURCH DIE BENUTZUNG DIESER SOFTWARE ENTSTEHEN, SELBST WENN DIE MÖGLICHKEIT SOLCHER SCHÄDEN MITGETEILT WURDE.

Versionsverlauf

Dokument-Nr.	Datum	Beschreibung der Änderung
Dokument-Nr. 200010452 v02	Juni 2026	<ul style="list-style-type: none"> • MiSeq Reporter Referenz für zusätzliche Analysen als Teil der vom MiSeqDx unterstützten Software hinzugefügt. • Hyperlink zur Supportseite des MiSeqDx Instrument hinzugefügt. • Lagertemperatur aktualisiert. • Informationen zur Virenschutz-Software wurden gelöscht. • Link zu den Richtlinien für Softwareeinschränkung auf das Illumina Product Security Portal aktualisiert.
Dokument-Nr. 200010452 Version 01	Oktober 2023	<ul style="list-style-type: none"> • Aktualisierte Verweise auf Local Run Setup. • Der Abschnitt „Illumina Proactive Monitoring Service“ (Überwachungsdienst Illumina Proactive) wurde aktualisiert, um die Funktion „Send Instrument Health“ (Gerätestatusinformationen senden) zur Wartung und Fehlerbehebung hinzuzufügen. • Das Verfahren zum Waschen der Matrizenleitung wurde aktualisiert. • Es wurde ein Hinweis zu den E-Mail-Einstellungen hinzugefügt, die die Parameter für den RFID-Lesefehler definieren.
Dokument-Nr. 200010452 Version 00	November 2021	Erste Version zur Unterstützung von MOS v4.0 und Local Run Manager v3.0.

Inhaltsverzeichnis

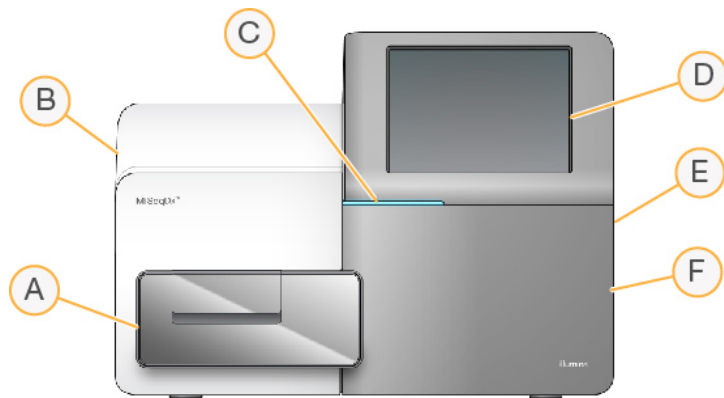
Versionsverlauf	iii
Überblick	1
Komponenten	1
MiSeqDx Software	3
Local Run Manager-Software	5
Erforderlicher Speicherplatz	6
Richtlinien für Softwareeinschränkung	6
Sequenzierungsmodus	7
Erste Schritte	9
Starten des MiSeqDx	9
Festlegen der Nachwaschungsoption	9
Festlegen der Option zum automatischen Start eines Laufs	10
Illumina Proaktiven Support einschalten	10
Festlegen von E-Mail-Voreinstellungen	11
Festlegen des Standardspeicherorts des Ausgabeordners	12
Erforderliche Verbrauchsmaterialien	12
Lagerung und Handhabung	13
Sequenzierung	15
Einleitung	15
Dauer des Laufs	15
Clusterbildung	15
Sequenzierung	15
Analyse	16
Vorbereiten der Reagenzienkartusche	16
Anmelden und Befolgen der Eingabeaufforderungen für die Sequenzierung	18
Reinigen der Fließzelle	18
Laden der Fließzelle	20
Laden von Reagenzien	22
Überwachen des Laufs	24
Durchführen einer Nachwaschung	26
Wartung	32
Wartungshäufigkeit	32
Präventive Wartung	32

Durchführen eines Wartungswaschlaufs	32
Durchführen eines Standby-Waschlaufs	35
Ausschalten des Geräts	38
Fehlerbehebung	39
Einleitung	39
Bundle Logs (Protokollbündel) für die Fehlerbehebung	39
Durchführen einer Systemprüfung	40
Unterbrechen oder Anhalten eines Laufs	40
Manuelles Anheben der Sipper einer Reagenzienkartusche	42
Beheben von Laufkonfigurationsfehlern	42
Beheben von RFID-Lese Fehlern	43
Verhindern von Neustarts während eines Laufs	45
Fehlerbehebung bei Fließratenfehlern	45
Durchführen eines Volumentests	45
Beheben von Temperaturfehlern des Reagenzienkühlers	46
Beheben von Analysefehler von Local Run Manager	47
Konfigurieren der Systemeinstellungen	47
Ausgabeordner	50
Laufordner	50
Technische Unterstützung	51

Überblick

Komponenten

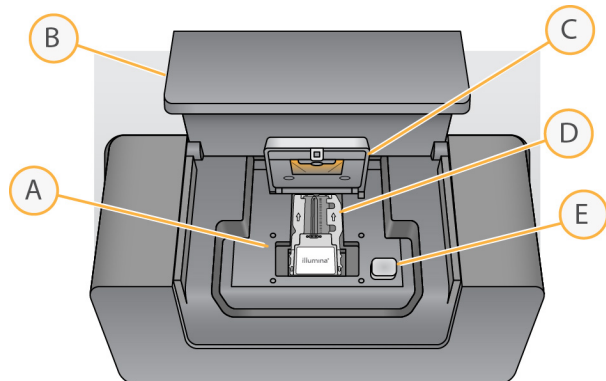
Das MiSeqDx verfügt über die folgenden externen Komponenten:



- A. **Fließzellenkammer:** Enthält den Fließzellentisch, auf dem sich die Fließzelle während des Laufs befindet. Der Fließzellentisch wird durch Motoren gesteuert, die den Tisch für das Laden der Fließzelle aus dem gekapselten Optikmodul herausfahren und ihn zurückfahren, wenn der Lauf beginnt.
- B. **Gekapseltes Optikmodul:** Enthält optische Komponenten, die die Bildgebung der Fließzelle ermöglichen.
- C. **Statusleiste:** Zeigt den Status der Fließzelle an: bereit für die Sequenzierung (grün), in Verarbeitung (blau) oder erfordert Überprüfung (orange).
- D. **Touchscreen-Monitor:** Zeigt die Oberfläche der Steuerungssoftware für die System- und Laufkonfiguration an.
- E. **Externer USB-Anschluss:** Ermöglicht über den Touchscreen-Monitor die Übertragung von Dateien und Daten auf den Gerätecomputer.
- F. **Reagenzienkammer:** Enthält Reagenzien bei geeigneten Temperaturen, Waschlösungen und eine Flasche für verbrauchte Reagenzien. Ein Magnetverschluss sichert die Klappe der Reagenzienkammer.

Auf der Benutzeroberfläche des MiSeqDx werden Sie durch die Schritte zur Laufkonfiguration über den Touchscreen-Monitor geführt. Zum Laden der Laufkomponenten müssen Sie auf die Reagenzienkammer und die Fließzellenkammer zugreifen können.

Fließzellenkammer

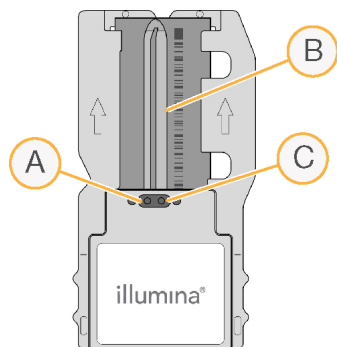


- A. Fließzellentisch
- B. Klappe der Fließzellenkammer
- C. Fließzellenriegel
- D. Fließzelle
- E. Freigabeknopf des Fließzellenriegels

In der Fließzellenkammer sind der Fließzellentisch, die thermische Station und die Fluidikanschlüsse für die Fließzelle untergebracht. Der Fließzellentisch hält die Fließzelle und der Fließzellenriegel sichert und positioniert die Fließzelle. Wenn der Fließzellenriegel schließt, wird die Fließzelle durch zwei Stifte in der Nähe des Verriegelungsscharniers automatisch positioniert.

Die thermische Station unter dem Fließzellentisch steuert die für die Clusterbildung und die Sequenzierung erforderlichen Änderungen der Fließzellentemperatur.

Fließzelle



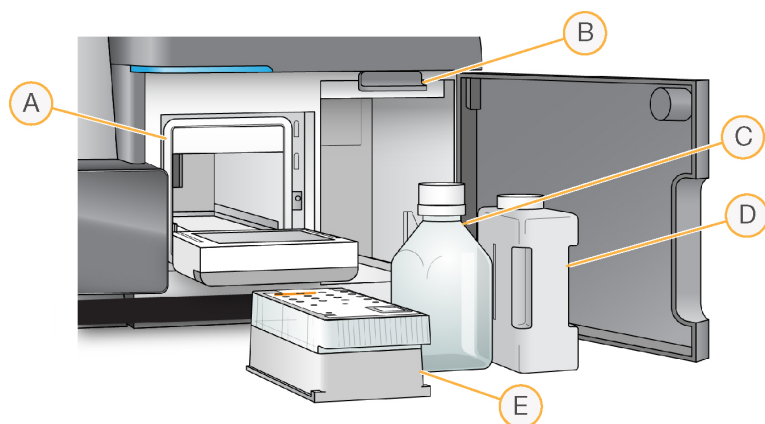
- A. Auslassanschluss
- B. Bildgebungsbereich
- C. Einlassanschluss

Die Fließzelle des MiSeqDx ist ein Glasträger für den Einmalgebrauch, auf dem die Clusterbildung und die Sequenzierungsreaktion stattfinden.

Reagenzien werden der Fließzelle durch den Einlassanschluss zugeführt, passieren den Bildgebungsbereich der einzelnen Lane und verlassen die Fließzelle durch den Auslassanschluss. Abfälle werden beim Verlassen der Fließzelle in die Abfallflasche transportiert.

Während des Sequenzierungslaufs wird die einzelne Lane in kleinen Bildgebungsbereichen aufgenommen, die als Platten bezeichnet werden.

Reagenzienkammer



- A. Reagenzienkühler
- B. Sipper-Griff (in angehobener Position dargestellt)
- C. MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche
- D. Abfallflasche
- E. Reagenzienkartusche

In der Reagenzienkammer befinden sich der Reagenzienkühler sowie Positionen für die MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche und die Abfallflasche.

Während des Laufs enthält der Reagenzienkühler eine Einweg-Reagenzienkartusche. Während des Gerätwaschlaufs enthält der Reagenzienkühler die Waschablage. Die Software senkt, je nachdem, welcher Prozess gerade ausgeführt wird, zum passenden Zeitpunkt während eines Laufs automatisch Sipper in die einzelnen Behälter der Reagenzienkartusche ab.

Rechts neben dem Reagenzienkühler befinden sich zwei formschlüssige Aussparungen, eine für die MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche und eine für die Abfallflasche. Der Sipper-Griff arretiert die Flaschen in ihrer Position und senkt den entsprechenden Sipper in die jeweilige Flasche ab.

Reagenzien werden durch die Sipper und die Fluidikleitungen und anschließend durch die Fließzelle gepumpt. Reagenzienabfall wird während des gesamten Prozesses in die Abfallflasche abgegeben.

MiSeqDx Software

Die Gerätesoftware-Suite umfasst integrierte Anwendungen für die Durchführung von Sequenzierungsläufen, die Geräteanalyse und zugehörige Funktionen.

- **MiSeq Operating Software (MOS):** Steuert den Gerätebetrieb. Auf der Benutzeroberfläche von MiSeq Operating Software (MOS) werden Sie durch die Schritte zum Laden der Fließzelle und der Reagenzien vor Beginn des Laufs geführt. Während der Durchführung des Laufs wird ein Überblick über Qualitätsstatistikwerte angezeigt. Die Software ist auf dem Gerät installiert und wird darauf ausgeführt.
- Während des Laufs steuert MOS den Fließzellentisch, verteilt Reagenzien, kontrolliert die Fließzellentemperaturen und nimmt Bilder von Clustern auf der Fließzelle auf. MOS führt den Lauf gemäß den in der Software Local Run Manager festgelegten Parametern durch.
- **Real-Time Analysis(RTA)-Software:** Führt die Bildanalyse und das Base-Calling durch und weist jeder Base für jeden Zyklus einen Qualitäts-Score zu. Bilder werden zur Verarbeitung durch RTA vorübergehend im Laufordner gespeichert und anschließend nach Abschluss der RTA-Analyse automatisch gelöscht.
- **Software Local Run Manager:** Eine integrierte Lösung für das Gerät, mit der ein Lauf erstellt wird, der Status überwacht wird, Sequenzierungsdaten analysiert werden und Ergebnisse angezeigt werden. Local Run Manager verfolgt auch Probeninformationen und steuert Benutzerberechtigungen. Die Software läuft auf dem Gerätecomputer und wird über einen Webbrowser angezeigt. Weitere Informationen finden Sie [Local Run Manager-Software auf Seite 5](#).
- Für RUO-Läufe steht **MiSeq Reporter** zur Durchführung zusätzlicher Analysen zur Verfügung.

Statussymbole

Wenn das Gerät initialisiert oder gestartet wird, zeigt ein Statussymbol auf der Oberfläche der Steuerungssoftware eine Änderung der Bedingungen an. Eine Zahl auf dem Symbol zeigt die Anzahl der Zustände für einen Status an.

Ändert sich der Laufstatus, blinkt das Symbol, um Sie zu warnen. Wählen Sie das Symbol, um eine Beschreibung der Zustände anzuzeigen. Wählen Sie **Acknowledge** (Bestätigen), um die Meldung zu löschen, und dann **Close** (Schließen), um das Dialogfeld zu schließen.

Filtern Sie die Typen der Meldungen, die im Statusfenster angezeigt werden, indem Sie die Symbole am oberen Fensterrand auswählen. Wenn Sie ein Symbol auswählen, wird die Bedingung angezeigt bzw. ausgeblendet.

Statussymbol	Statusname	Beschreibung
	Status OK	Keine Änderung. Das System funktioniert normal.
	Warnung	Bei einer Warnung wird ein Lauf nicht angehalten. Bei einigen Warnungen sind jedoch Maßnahmen erforderlich, bevor der Lauf fortgesetzt wird.
	Fehler	Fehler stoppen einen Lauf in der Regel und erfordern im Allgemeinen eine Aktion, bevor der Lauf fortgesetzt werden kann.

Sensoranzeigen

Im unteren Bereich jedes Bildschirms in der Benutzeroberfläche befinden sich drei Sensoranzeigen, die jeweils den Status einer Gerätekomponente darstellen.

Abbildung 1 Sensoranzeigen



Die Sensoranzeigen stehen von links nach rechts für die folgenden Komponenten:

- Temperatur des Reagenzienkühlers in °C
- Temperatur der Fließzelle in °C

Local Run Manager-Software

Die Software Local Run Manager ist eine im Gerät integrierte Lösung zum Erfassen von Proben für Läufe, zum Angeben von Laufparametern, zum Überwachen von Status, zum Analysieren von Sequenzierungsdaten und zum Anzeigen der Ergebnisse.

Darüber hinaus steuert Local Run Manager die Benutzerauthentifizierung und gewährt Benutzern verschiedene Zugriffsberechtigungen. Berechtigungen werden in einer Datenbankdatei gespeichert, auf die das MiSeqDx zugreift. Local Run Manager kann auch den Sequenzierungslauf überwachen. Weitere Informationen finden Sie unter *Local Run Manager Version 4 Software-Referenzhandbuch für MiSeqDx (Dokument-Nr. 200046657)*.

Sequenzierung während der Analyse

Die Datenverarbeitungsressourcen des MiSeqDx-Geräts werden entweder für die Sequenzierung oder die Analyse verwendet.

Wenn mit Local Run Manager auf dem MiSeqDx ein neuer Sequenzierungslauf gestartet wird, bevor die Sekundäranalyse eines vorherigen Laufs abgeschlossen ist, wird ein Bestätigungsdialogfeld angezeigt. Wenn Sie den Start des neuen Sequenzierungslaufs bestätigen, wird die Sekundäranalyse des vorherigen Laufs gestoppt, bis die Sequenzierung des neuen Laufs abgeschlossen ist.

Nach Abschluss der Sequenzierung des neuen Laufs beginnt die Sekundäranalyse des vorherigen Laufs automatisch wieder von vorne.

Erforderlicher Speicherplatz

Der integrierte Gerätecomputer besitzt eine Speicherkapazität von ca. 650 GB.

Bevor ein Lauf gestartet wird, überprüft die Software den verfügbaren Speicherplatz. Falls nicht genügend Speicherplatz für den Lauf vorhanden ist, wird eine Software-Eingabeaufforderung angezeigt. Die Meldung gibt an, wie viel Speicherplatz für den Lauf benötigt wird und wie viel Speicherplatz freigegeben werden muss, damit der Lauf fortgesetzt werden kann.

Falls Sie dazu aufgefordert werden, für mehr Speicherplatz zu sorgen, löschen Sie ältere Laufordner bzw. lagern Sie diese aus.

Richtlinien für Softwareeinschränkung

Die Windows-Richtlinien für Softwareeinschränkung (Software Restriction Policies, SRP) nutzen Regeln, um die Ausführung nur von bestimmter Software zuzulassen. Beim MiSeqDx basieren SRP-Regeln auf Zertifikaten, Dateinamen, Dateierweiterungen und Verzeichnissen.

Die SRP sind standardmäßig aktiviert, um zu verhindern, dass auf dem Steuerungscomputer unerwünschte Software ausgeführt wird. Nur der Benutzer „sbsadmin“ kann SRP deaktivieren.

Ein IT-Beauftragter oder ein Systemadministrator kann Regeln hinzufügen und entfernen, um die Sicherheitsstufe anzupassen. Wenn das System einer Domäne hinzugefügt wird, kann das lokale Gruppenrichtlinienobjekt (Group Policy Object, GPO) die Regeln automatisch ändern und die SRP deaktivieren.

Weitere Informationen zur Konfiguration von SRP finden Sie im [Illumina Product Security Portal](#).



VORSICHT

Das Deaktivieren der SRP verhindert den Schutz, den sie bieten. Das Ändern der Regeln überschreibt die Standardschutzvorkehrungen.

Sequenzierungsmodus

Wenn Sie das Gerät starten, wird der Windows-Bildschirm **Choose an operating system** (Betriebssystem auswählen) angezeigt. Auf diesem Bildschirm können Sie den Sequenzierungsmodus des Betriebssystems auswählen, mit dem das Gerät gestartet werden soll: Forschungsmodus (RUO) oder Diagnosemodus (Dx). Wenn Sie 10 Sekunden warten, wird automatisch der Standardmodus gewählt. Sie können den Standardmodus und den Timer für den Standard-Startmodus jederzeit ändern.

- Nachdem Sie einen Modus ausgewählt haben, müssen Sie das System neu starten, um den Modus zu wechseln. Siehe [Neustarten der Systemsoftware auf Seite 8](#).
- Wenn Sie zwischen dem RUO-Modus und dem Dx-Modus wechseln, werden Sie aufgefordert, eine Nachwaschung durchzuführen. Der Waschlaufstatus wird nicht zwischen Modi übertragen.

Für die Neustartfunktion ist der Zugriff als Windows-Administrator oder für einen Benutzer ohne Administratorrechte die Berechtigung zum Neustart im Forschungsmodus erforderlich.



VORSICHT

Das Zurücksetzen des Betriebssystems auf die Werkseinstellungen (RUO/Dx) sollte ausschließlich durch Servicetechniker von Illumina erfolgen. Mit dieser Option werden alle Informationen auf Laufwerk C dauerhaft gelöscht und das Betriebssystem wird im Auslieferungszustand wiederhergestellt. Wenn Sie diese Option auswählen, muss ein Servicetechniker von Illumina das System wiederherstellen. Der Wiederherstellungsprozess kann nach dem Starten nicht abgebrochen werden. Aktivieren Sie diese Option nur auf Empfehlung des Kundenservice von Illumina.

So ändern Sie den Standard-Startmodus:

1. Wählen Sie **Change defaults or choose other options** (Standardeinstellungen ändern oder weitere Optionen wählen).
2. Wählen Sie im Bildschirm „Options“ (Optionen) die Option **Choose a default operating system** (Standardbetriebssystem wählen).
3. Wählen Sie den gewünschten Startmodus.
4. Wählen Sie den Pfeil „Back“ (Zurück), um zum Bildschirm **Options** (Optionen) zurückzukehren.

So ändern Sie den Timer für den Standard-Startmodus:

1. Wählen Sie **Change defaults or choose other options** (Standardeinstellungen ändern oder weitere Optionen wählen).
2. Wählen Sie auf den Bildschirm „Options“ (Optionen) die Option **Change the timer** (Timer ändern).
3. Wählen Sie auf den Bildschirm „Change the timer“ (Timer ändern) den gewünschten Timer.

4. Wählen Sie den Pfeil „Back“ (Zurück), um zum Bildschirm **Options** (Optionen) zurückzukehren.



WARNUNG

Wenn ein Benutzer unter Windows 10 das System neu startet, kann sich nur dieser Benutzer nach dem Hochfahren beim System anmelden.

Neustarten der Systemsoftware

Verwenden Sie den Befehl „Reboot“ (Neu starten), um die Systemsoftware neu zu starten. Es ist im Rahmen der regelmäßigen Wartung nicht erforderlich, die Software neu zu starten.

- Wählen Sie im Hauptmenü die Option **Reboot** (Neu starten).

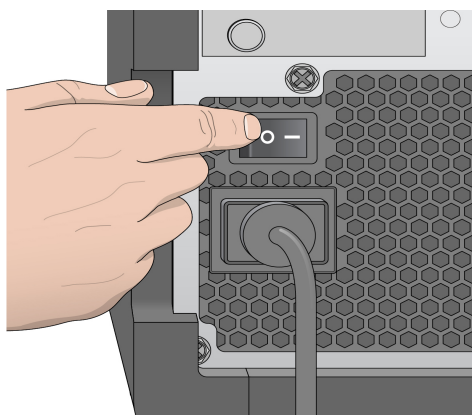
Erste Schritte

Starten des MiSeqDx

1. Stellen Sie den Netzkippschalter auf der Rückseite des Geräts in die Position ON (EIN).

HINWEIS Um eine optimale Leistung zu erzielen, lassen Sie das Gerät immer eingeschaltet. Für den Fall, dass das Gerät ausgeschaltet werden muss, lesen Sie [Ausschalten des Geräts auf Seite 38](#). Warten Sie *mindestens* 60 Sekunden, bevor Sie den Netzschalter wieder einschalten.

Abbildung 2 Position des Netzschalters



2. Warten Sie, bis das System geladen ist, wählen Sie dann das Betriebssystem und melden Sie sich an. Fragen Sie, falls erforderlich, den Administrator Ihres Unternehmens nach dem Benutzernamen und dem Kennwort.
Weitere Informationen zu den Optionen für das Betriebssystem und den Sequenzierungsmodus finden Sie unter [Sequenzierungsmodus auf Seite 7](#).
Wenn das Betriebssystem geladen ist, wird die MiSeq Operating Software (MOS) gestartet. Sie beginnt automatisch mit der Initialisierung des Systems. Wenn der RUO-Modus ausgewählt ist, wird die MiSeq Control Software (MCS) automatisch gestartet.
3. Wenn Sie Local Run Manager verwenden und die Benutzerverwaltung aktiviert ist, melden Sie sich mit Ihrem Local Run Manager-Benutzernamen und -Kennwort an und wählen Sie **Next** (Weiter).

Festlegen der Nachwaschungsoption

Nach jedem Lauf muss ein Gerätewaschlauf durchgeführt werden. Die Software verlangt die Durchführung eines Waschlaufs, bevor ein weiterer Lauf eingerichtet werden kann. Die Nachwaschungsoption legt die Art des standardmäßig durchzuführenden Waschlaufs fest. Eine

Nachwaschung dauert etwa 30 Minuten. Ein Wartungswaschlauf dauert etwa 90 Minuten.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Die Registerkarte **Run Settings** (Laufeinstellungen) auswählen.
3. Wählen Sie **Post Run Wash** (Nachwaschung) bzw. **Maintenance Wash** (Wartungswaschlauf).

Festlegen der Option zum automatischen Start eines Laufs

Das MiSeqDx kann so konfiguriert werden, dass der Sequenzierungslauf nach einer erfolgreichen automatischen Prüfung automatisch gestartet wird. Local Run Manager Zum Konfigurieren dieser Funktion werden Administratorrechte benötigt.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Die Registerkarte **Run Settings** (Laufeinstellungen) auswählen.
3. Das Kästchen **Start run after pre-run check. Do not prompt for confirmation.** (Lauf nach Prüfung vor dem Lauf starten. Nicht zur Bestätigung auffordern.) auswählen.
Wenn diese Option deaktiviert ist, müssen Sie den Lauf nach der Durchführung des Selbsttests manuell starten.

Illumina Proaktiven Support einschalten

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Die Registerkarte „Proactive“ (Proaktiv) auswählen.
- Die Option **Send Instrument Health** (Gerätestatus senden) auswählen, um den Überwachungsdienst Illumina Proactive zu aktivieren. Je nach verwendeter MOS-Version kann der Name dieser Einstellung in der Benutzeroberfläche der Software von dem in diesem Handbuch abweichen.

Wenn diese Einstellung aktiviert ist, werden Geräteleistungsdaten an Illumina gesendet. Diese Daten erleichtern Illumina die Fehlerbehebung und das Erkennen möglicher Ausfälle. Sie ermöglichen eine proaktive Wartung und die Maximierung der Geräteverfügbarkeit. Weitere Informationen zu den Vorteilen dieses Dienstes finden Sie im *technischen Hinweis zu Illumina Proactive (Dokument-Nr. 1000000052503)*.

Dieser Dienst:

- Sendet keine Sequenzierungsdaten.
- Erfordert, dass das Gerät mit einem Netzwerk mit Internetzugang verbunden ist.
- Ist standardmäßig deaktiviert. Wenn Sie den Dienst einschalten möchten, aktivieren Sie die Einstellung **Send Instrument Health** (Gerätestatus senden).

- **Send instrument health information to Illumina** (Gerätestatusinformationen an Illumina senden) auswählen, um den Überwachungsdienst Illumina Proactive zu aktivieren. Je nach verwendeter MOS-Version kann der Name dieser Einstellung in der Benutzeroberfläche der Software von dem in diesem Handbuch abweichen.

Wenn diese Einstellung aktiviert ist, werden Geräteleistungsdaten an Illumina gesendet. Diese Daten erleichtern Illumina die Fehlerbehebung und das Erkennen möglicher Ausfälle. Sie ermöglichen eine proaktive Wartung und die Maximierung der Geräteverfügbarkeit. Weitere Informationen zu den Vorteilen dieses Dienstes finden Sie im *technischen Hinweis zu Illumina Proactive (Dokument-Nr. 1000000052503)*.

Dieser Dienst:

- Sendet keine Sequenzierungsdaten.
- Erfordert, dass das Gerät mit einem Netzwerk mit Internetzugang verbunden ist.
- Ist standardmäßig deaktiviert. Wenn Sie den Dienst einschalten möchten, aktivieren Sie die Einstellung **Send instrument health information to Illumina to aid technical support** (Gerätestatusinformationen zur Unterstützung des technischen Supports an Illumina senden).

3. Wählen Sie in der Dropdown-Liste die Hosting-Region für die Geräteverbindung aus.

Festlegen von E-Mail-Voreinstellungen

Das MiSeqDx-Gerät kann so konfiguriert werden, dass bei Abschluss der RTA-Analyse eine E-Mail-Benachrichtigung gesendet wird, sobald die Sekundäranalyse im Gerät abgeschlossen ist und wenn ein kritischer MiSeqDx-Softwarefehler auftritt. In der Regel wird dies während der Installation des MiSeqDx-Geräts konfiguriert. Local Run Manager Für diese Funktion werden Administratorrechte benötigt.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Wählen Sie die Registerkarte **Email Notifications** (E-Mail-Benachrichtigungen).
3. Geben Sie folgende Informationen ein:
 - **Local SMTP email server address** (Adresse des lokalen SMTP-E-Mail-Servers): Die Adresse des lokalen SMTP-E-Mail-Servers über die Bildschirmtastatur eingeben. Fragen Sie bei Bedarf den Administrator Ihres Unternehmens nach dieser Information.
 - **Sender address** (E-Mail-Adresse des Absenders): Über die Bildschirmtastatur die E-Mail-Adresse des Absenders eingeben. Sie können Ihre E-Mail-Adresse oder eine andere E-Mail-Adresse zum Senden von E-Mail-Benachrichtigungen angeben. Der Domänenname der E-Mail-Adresse des Absenders und der Adresse des E-Mail-Servers müssen identisch sein.
 - **Recipient addresses** (Empfängeradressen): Geben Sie über die Bildschirmtastatur die E-Mail-Adressen der Benachrichtigungsempfänger ein. Trennen Sie die einzelnen E-Mail-Adressen durch Kommas. Wählen Sie **Test**, um eine Test-E-Mail an die Benachrichtigungsempfänger zu senden.

- **Notify via email when** (Per E-Mail benachrichtigen, wenn): Aktivieren Sie die Kontrollkästchen der Laufereignisse, für die eine Benachrichtigung gesendet werden soll.

HINWEIS Bei einem Diagnoselauf ist ein RFID-Lesefehler zulässig. Wenn die RFID von zwei Verbrauchsmaterialien nicht gelesen werden kann, kann die Software nicht mit dem nächsten Schritt zum Einrichten des Laufs fortfahren. Bei Auftreten dieses Fehlers bitte an den technischen Support von Illumina wenden. Wenn Sie die Kästchen **Notify via email when** (Per E-Mail benachrichtigen) und **On-Instrument analysis is complete** (Analyse auf dem Gerät ist abgeschlossen) auswählen, werden E-Mail-Benachrichtigungen nur dann gesendet, wenn der Lauf nicht so konfiguriert ist, dass Sequenzierungsdaten an BaseSpace Sequence Hub gesendet werden.

Festlegen des Standardspeicherorts des Ausgabeordners

Der MiSeqDx-Ordner „Output“ (Ausgabe) legt den Standardspeicherort für Analyseausgabedateien fest. Ordner können sich in einem lokalen Netzwerk oder auf dem Gerätecomputer befinden. Ändern Sie den Speicherort des Standardordners „Output“ (Ausgabe) in einen Speicherort im Netzwerk, wenn Sie ihn freigeben oder langfristig speichern möchten.

Zum Konfigurieren dieser Funktion werden Administratorrechte für Local Run Manager benötigt.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Die Registerkarte „Run Settings“ (Laufeinstellungen) auswählen.
3. Geben Sie im Feld „Output Folder“ (Ausgabeordner) den Pfad zum Speicherort ein.

Stellen Sie sicher, dass Sie den vollständigen UNC-Pfad eingeben, z. B.

\\YourServer\Path\OutputFolder.



WARNUNG

Wenn Sie ein zugeordnetes Laufwerk verwenden, z. B. Z:\OutputFolder, wird die Analyse des Sequenzierungslaufs nicht vollständig durchgeführt.

Erforderliche Verbrauchsmaterialien

Sequenzierungs-Verbrauchsmaterialien

Die für den Betrieb des MiSeqDx erforderlichen Sequenzierungs-Verbrauchsmaterialien werden separat als Teil eines *In-vitro*-Diagnose-Kits bereitgestellt.

Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien

Stellen Sie sicher, dass die folgenden vom Benutzer bereitzustellenden Verbrauchsmaterialien verfügbar sind, bevor Sie mit einem Lauf beginnen.

Verbrauchsmaterial	Zweck
Alkoholtupfer, 70 % Isopropyl oder Ethanol, 70 %	Reinigen des Fließzellenglases und des Fließzellentisches.
Labortücher, fusselfrei	Zum Reinigen des Fließzellentisches.
Linsenpapier, 10,2 x 15,2 cm	Reinigen der Fließzelle.
MiSeq Röhrchen	Reinigen der Matrizenleitung (optional).
NaOCl, 5 %	Reinigen der Matrizenleitung (optional).
Tween 20	Gerätewaschlauf.
Pinzette, viereckige Spitze, Kunststoff (optional)	Entfernen der Fließzelle aus dem Versandbehälter.
Wasser, Laborqualität	Gerätewaschlauf.

Richtlinien für Wasser in Laborqualität

Bei Geräteverfahren sollte immer deionisiertes Wasser bzw. Wasser in Laborqualität verwendet werden. Niemals Leitungswasser verwenden.

Verwenden Sie nur die folgenden Wasserarten oder Äquivalente:

- Deionisiertes Wasser
- Illumina PW1
- 18-Megohm-Wasser (MΩ)
- Milli-Q Wasser
- Super-Q Wasser
- Wasser für die Molekularbiologie

Lagerung und Handhabung

Umgebungsfaktor	Spezifikation
Temperatur	Transport: -10 °C bis 40 °C Lagerung: 15 °C bis 30 °C Betriebsbedingungen: 19 °C bis 25 °C

Umgebungsfaktor	Spezifikation
Luftfeuchtigkeit	Transport und Lagerung: Nicht kondensierende Luftfeuchtigkeit Betriebsbedingungen: 30 bis 75 % relative Feuchtigkeit (nicht kondensierend)

Sequenzierung

Einleitung

Um einen Lauf auf dem MiSeqDx auszuführen, die Schritte zur Einrichtung in diesem Kapitel befolgen. Nach dem Beginn des Laufs sind keine weiteren Aktionen seitens des Benutzers erforderlich.

Führen Sie nach Abschluss des Sequenzierungslaufs einen Gerätewaschlauf durch.

Dauer des Laufs

Die Dauer des Laufs basiert auf der Anzahl der durchgeführten Zyklen. Je nach Version der MiSeqDx-Reagenzien kann das MiSeqDx einen Paired-End-Sequenzierungslauf von bis zu 2 x 301 Sequenzierungszyklen durchführen.

Anzahl der Zyklen in einem Read

Die Anzahl der in einem Read ausgeführten Zyklen ist um einen Zyklus höher als die Anzahl der analysierten Zyklen. Der zusätzliche Zyklus ist für Phasierungs- und Vorphasierungsberechnungen erforderlich.

Beispiel: Bei einem Paired-End-Lauf mit 150 Zyklen werden zwei Reads mit 151 Zyklen (2 x 151) ausgeführt, sodass sich eine Gesamtanzahl von 302 Zyklen, ggf. zuzüglich Zyklen für Index-Reads, ergibt. Am Ende des Laufs werden 2 x 150 Zyklen analysiert.

Clusterbildung

Während der Clusterbildung werden einzelne DNA-Moleküle an der Oberfläche der Fließzelle gebunden und dann amplifiziert, um Cluster zu bilden.

Sequenzierung

Im Anschluss an die Clusterbildung werden die Cluster mithilfe von LED und Filterkombinationen aufgenommen, die jedem der vier Fluoreszenz-Didesoxynukleotide entsprechen. Nachdem die Bildgebung einer Platte der Fließzelle abgeschlossen ist, wird die Fließzelle in die richtige Lage gebracht, um die nächste Platte aufzunehmen. Dieser Vorgang wird wiederholt, bis die Bildgebung für alle Platten beendet ist. Im Anschluss an die Bildanalyse führt die Software die Primäranalyse durch. Diese umfasst Base-Calling, Filtern und Qualitätsbewertung.

Analyse

Wenn der Lauf abgeschlossen ist, startet die Analysesoftware von Local Run Manager automatisch, um die Sekundäranalyse durchzuführen.

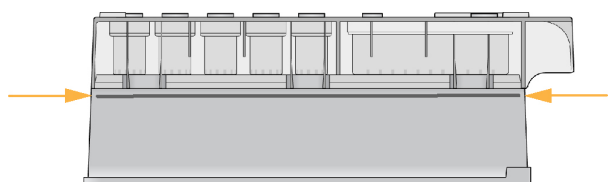
Die Sekundäranalyse kann über eine Internetverbindung von einem anderen Computer aus überwacht werden, sofern der Computer dieselbe Netzwerkverbindung nutzt wie das MiSeqDx. Weitere Informationen finden Sie im *Local Run Manager Version 4 Software-Referenzhandbuch für MiSeqDx* (Dokument-Nr. 200046657).

Vorbereiten der Reagenzienkartusche

In den folgenden Anweisungen wird beschrieben, wie die Reagenzienkartusche in einem Wasserbad mit Raumtemperatur aufgetaut wird.

1. Tauen Sie die Reagenzienkartusche in einem Wasserbad auf, das ausreichend raumtemperiertes deionisiertes Wasser enthält, um die Basis der Reagenzienkartusche bis zur auf der Reagenzienkartusche aufgedruckten Wasserlinie einzutauchen. Das Wasser darf die Linie für den maximalen Wasserstand nicht übersteigen.
2. Nehmen Sie die Reagenzienkartusche aus dem Lagerort mit einer Temperatur von -25 °C bis -15 °C heraus.
3. Legen Sie die Reagenzienkartusche in ein Wasserbad, das so viel raumtemperiertes deionisiertes Wasser enthält, dass es die Basis der Reagenzienkartusche bedeckt. Das Wasser darf nicht über die maximale Wasserlinie hinausreichen, die auf der Reagenzienkartusche aufgedruckt ist.

Abbildung 3 Linie für maximalen Wasserstand



4. Lassen Sie die Reagenzienkartusche im raumtemperierten Wasserbad vollständig auftauen. Das Auftauen dauert je nach Art der Reagenzienkartusche etwa 60 bis 90 Minuten. Weitere Informationen finden Sie in der Packungsbeilage des Assays.
5. Nehmen Sie die Kartusche aus dem Wasserbad und klopfen Sie sie vorsichtig auf der Arbeitsfläche ab, um das Wasser von der Basis der Kartusche zu entfernen. Trocknen Sie die Basis der Kartusche ab. Stellen Sie sicher, dass kein Wasser auf die Oberseite der Reagenzienkartusche gespritzt ist.

Überprüfen der Reagenzienkartusche

1. Invertieren Sie die Reagenzienkartusche 10-mal, um die aufgetauten Reagenzien zu mischen, und überprüfen Sie anschließend, ob alle Positionen aufgetaut sind.

2. Führen Sie eine Prüfung der Reagenzien an den Positionen 1, 2 und 4 durch, um sicherzugehen, dass sie vollständig vermischt und frei von Ausfällungen sind.

HINWEIS Es ist äußerst wichtig, dass die Reagenzien in der Kartusche vollständig aufgetaut und gemischt sind, damit eine ordnungsgemäße Sequenzierung sichergestellt werden kann.

3. Mit der Kartusche vorsichtig auf die Arbeitsfläche klopfen, um Luftblasen in den Reagenzien zu entfernen.

HINWEIS Die MiSeqDx-Sipper-Röhrchen reichen bis zum Boden der einzelnen Behälter, um die Reagenzien zu aspirieren. Deshalb dürfen sich keine Luftblasen in den Behältern befinden.

4. Lagern Sie die Reagenzienkartusche auf Eis bzw. lagern Sie sie bei 2 °C bis 8 °C (bis zu 6 Stunden), bis Sie den Lauf konfigurieren können. Die besten Ergebnisse erzielen Sie, wenn Sie direkt mit dem Laden der Probe und dem Konfigurieren des Laufs fortfahren.

Laden der Probenbibliotheken in eine Kartusche

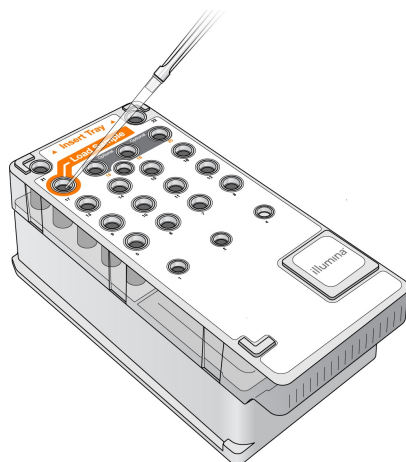
Wenn die Reagenzienkartusche vollständig aufgetaut und gebrauchsfertig ist, können Sie die Proben in die Kartusche laden.

1. Verwenden Sie eine separate, saubere und leere 1-ml-Pipettenspitze, um die Verschlussfolie über dem mit **Load Samples** (Proben laden) bezeichneten Behälter auf der Reagenzienkartusche zu durchstechen.

HINWEIS Durchstechen Sie keine anderen Reagenzienpositionen. Die anderen Reagenzienpositionen werden automatisch während des Laufs durchstoichen.

2. Geben Sie mit der Pipette 600 µl der vorbereiteten DAL-Probenbibliotheken (Diluted Amplicon Library, verdünnte Amplikonbibliothek) in den Behälter **Load Samples** (Proben laden). Achten Sie darauf, die Verschlussfolie nicht zu berühren.
3. Nach dem Laden der Probe überprüfen, ob sich Luftblasen im Behälter befinden. Falls Luftblasen vorhanden sind, klopfen Sie mit der Kartusche vorsichtig auf die Arbeitsfläche, damit die Blasen entweichen.

Abbildung 4 Laden der Bibliotheken



4. Mit den Schritten zum Konfigurieren des Laufs über die Benutzeroberfläche des MiSeq Operating Software (MOS) fortfahren.

Anmelden und Befolgen der Eingabeaufforderungen für die Sequenzierung

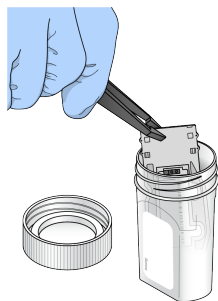
1. Wählen Sie im „Home Screen“ (Startbildschirm) die Option **Sequence** (Sequenzieren).
2. Wenn der Anmeldebildschirm geöffnet wird, geben Sie die entsprechenden Benutzeranmeldedaten ein und wählen Sie anschließend **Next** (Weiter). Wählen Sie nach der Anmeldung erneut **Sequence** (Sequenzieren).
3. Wählen Sie einen Lauf aus der Liste aus.
4. **[Optional] Preview Samples** (Probenvorschau) auswählen, um eine Liste der Proben im Lauf anzeigen zu lassen.
5. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus.
6. Folgen Sie den Aufforderungen zum Laden der Fließzelle und Reagenzien und richten Sie den Lauf ein (in den folgenden Abschnitten beschrieben).

Reinigen der Fließzelle

Die Fließzelle befindet sich in einem Fließzellenbehälter und ist in Lagerungspuffer eingetaucht.

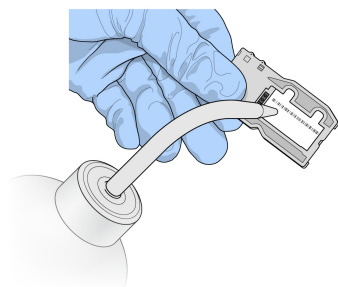
1. Ziehen Sie ein neues Paar ungepuderter Handschuhe an.
2. Greifen Sie die Fließzelle mit einer Kunststoffpinzette an der Basis der Kunststoffkartusche und nehmen Sie sie aus dem Fließzellenbehälter.

Abbildung 5 Entnehmen der Fließzelle



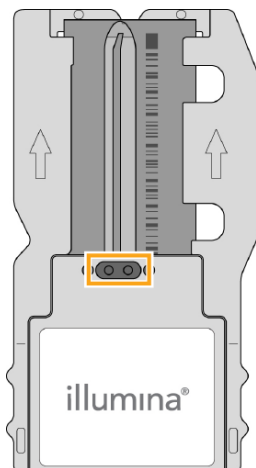
3. Spülen Sie die Fließzelle leicht mit Wasser in Laborqualität und stellen Sie sicher, dass sowohl das Glas als auch die Kunststoffkartusche gründlich von Salzablagerungen befreit werden. Salzablagerungen beeinträchtigen den Sitz der Fließzelle im Gerät. Wenn Salzablagerungen im Bildgebungsbereich antrocknen, kann die Bildgebung ebenfalls beeinträchtigt werden.

Abbildung 6 Spülen der Fließzelle



4. Trocknen Sie die Fließzelle und die Kartusche mit einem fusselfreien Reinigungstuch für Objektive sorgfältig ab. Gehen Sie dabei behutsam mit der schwarzen Fließzellenanschlussdichtung (in folgender Abbildung umrandet) um. Tupfen Sie den Bereich der Dichtung und des angrenzenden Glases vorsichtig trocken.

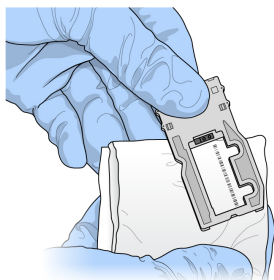
Abbildung 7 Fließzellenanschlüsse und Dichtung



5. Reinigen Sie das Fließzellenglas mit einem Alkoholtupfer. Sicherstellen, dass das Glas keine Streifen, Fingerabdrücke und Fusseln oder Gewebefasern aufweist.

HINWEIS Achten Sie darauf, dass der Alkoholtupfer nicht mit der Fließzellenanschlussdichtung in Kontakt kommt.

Abbildung 8 Trocknen der Fließzelle



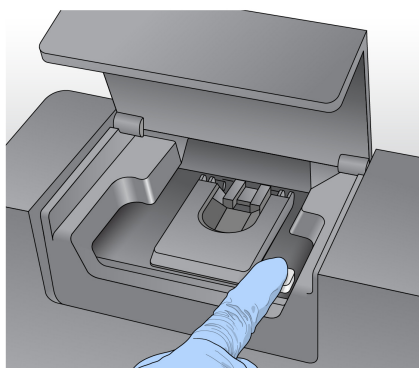
6. Trocknen Sie überschüssigen Alkohol mit einem fusselfreien Reinigungstuch für Objektive ab.
7. Stellen Sie sicher, dass die Fließzellenanschlüsse nicht verstopft sind und dass die Dichtung rund um die Fließzellenanschlüsse gut sitzt.

Wenn die Dichtung verschoben zu sein scheint, drücken Sie sie vorsichtig zurück an ihren Platz, bis sie die Fließzellenanschlüsse sicher umschließt.

Laden der Fließzelle

1. Heben Sie die Klappe der Fließzellenkammer an und drücken Sie anschließend den Freigabeknopf rechts neben dem Fließzellenriegel. Der Fließzellenriegel öffnet sich.

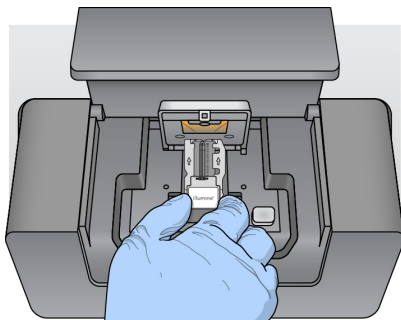
Abbildung 9 Öffnen des Fließzellenriegels



2. Stellen Sie sicher, dass sich keine Fusseln auf dem Fließzellentisch befinden. Wenn Fusseln oder andere Partikel vorhanden sind, reinigen Sie den Fließzellentisch mit einem Alkoholtupfer oder einem fusselfreien, mit Ethanol oder Isopropanol befeuchteten Tuch. Wischen Sie die Oberfläche des Fließzellentischs vorsichtig ab, bis sie sauber und trocken ist.

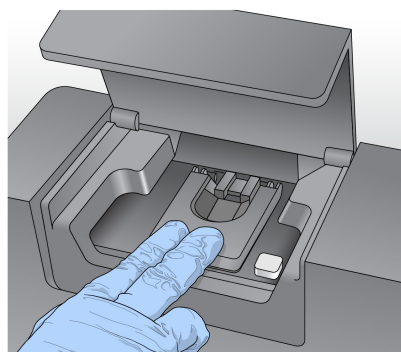
3. Halten Sie die Fließzelle an den Kanten der Fließzellenkartusche fest und platzieren Sie sie auf dem Fließzellentisch.

Abbildung 10 Platzieren der Fließzelle auf dem Tisch



4. Drücken Sie den Fließzellenriegel sanft nach unten, um ihn über der Fließzelle zu schließen. Wenn sich der Fließzellenriegel schließt, wird die Fließzelle durch die Ausrichtungsstifte positioniert. Ein hörbares Klicken gibt an, dass der Fließzellenriegel sicher eingerastet ist.

Abbildung 11 Schließen des Fließzellenriegels



5. Falls die Software die RFID der Fließzelle nicht erkennt, lesen Sie [Beheben von RFID-Lese Fehlern auf Seite 43](#).

HINWEIS Wenn die RFID nicht gelesen werden kann, können Sie manuell Informationen zur Identifikation eingeben. Die Software erlaubt jedoch bei einem In-vitro-Diagnoselauf das Fehlschlagen des Lesevorgangs nur bei einer der drei mit einer RFID gekennzeichneten Komponenten (Fließzelle, Reagenzienkartusche, MiSeqDx SBS Solution (PR2)). Weitere Informationen finden Sie unter [Beheben von RFID-Lese Fehlern auf Seite 43](#).

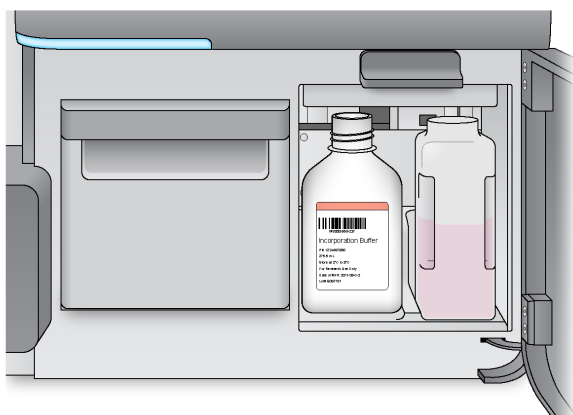
6. Schließen Sie die Klappe der Fließzellenkammer.
7. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus.

Laden von Reagenzien

Laden der MiSeqDx SBS Solution (PR2) und Prüfen der Abfallflasche

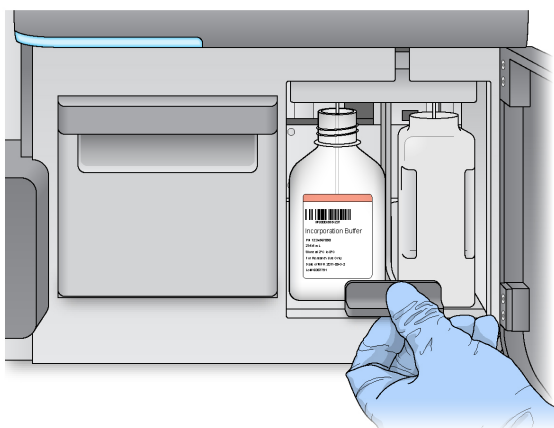
1. Die Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) aus dem Lagerort mit einer Temperatur von 2 °C bis 8 °C herausnehmen. Invertieren Sie sie zum Mischen und entfernen Sie anschließend den Deckel.
2. Öffnen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
3. Heben Sie den Sipper-Griff an, bis er einrastet.
4. Die Waschflasche entnehmen und die MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche laden.

Abbildung 12 Die MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche laden.



5. Leeren Sie den Inhalt der Abfallflasche in den entsprechenden Abfallbehälter aus.
6. Senken Sie langsam den Sipper-Griff. Sicherstellen, dass die Sipper in die MiSeqDx SBS Solution (PR2)- und die Abfallflasche eintauchen.

Abbildung 13 Absenken des Sipper-Griffs



7. Falls die Software die RFID der MiSeqDx SBS Solution (PR2) Flasche nicht erkennt, siehe [Beheben von RFID-Lese Fehlern auf Seite 43](#).

HINWEIS Wenn die RFID nicht gelesen werden kann, können Sie manuell Informationen zur Identifikation eingeben. Die Software erlaubt jedoch bei einem In-vitro-Diagnoselauf das Fehlschlagen des Lesevorgangs nur bei einer der drei mit einer RFID gekennzeichneten Komponenten (Fließzelle, Reagenzienkartusche, MiSeqDx SBS Solution (PR2)). Weitere Informationen finden Sie unter [Beheben von RFID-Lesefehlern auf Seite 43](#).

8. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus.

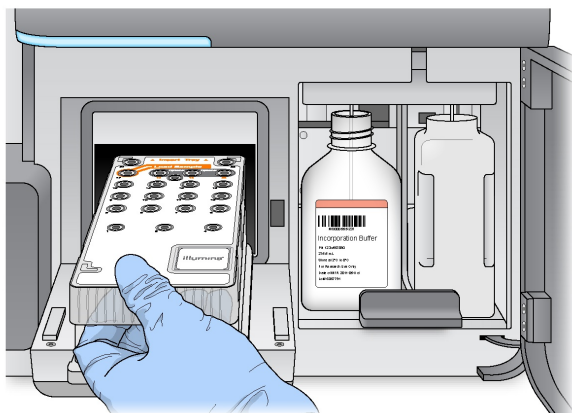
Laden der Reagenzienkartusche

1. Öffnen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.

HINWEIS Lassen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers nicht für längere Zeit geöffnet.

2. Die Reagenzienkartusche am Ende mit dem Illumina-Etikett halten und bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler schieben.

Abbildung 14 Laden der Reagenzienkartusche



3. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.
4. Falls die Software die RFID der Reagenzienkartusche nicht erkennt, siehe [Beheben von RFID-Lesefehlern auf Seite 43](#).

HINWEIS Wenn die RFID nicht gelesen werden kann, können Sie manuell Informationen zur Identifikation eingeben. Die Software erlaubt jedoch bei einem In-vitro-Diagnoselauf das Fehlschlagen des Lesevorgangs nur bei einer der drei mit einer RFID gekennzeichneten Komponenten (Fließzelle, Reagenzienkartusche, MiSeqDx SBS Solution (PR2)). Weitere Informationen finden Sie unter [Beheben von RFID-Lesefehlern auf Seite 43](#).

5. Um den Lauf zu starten, wählen Sie eine der folgenden Optionen.

- Wenn das System nicht für einen automatischen Start des Laufs nach erfolgreicher Durchführung des Selbsttests konfiguriert ist, wählen Sie **Start Run** (Lauf starten).
- Ist das System für den automatischen Start konfiguriert, wird der Sequenzierungslauf automatisch gestartet. Sie müssen nicht anwesend sein. Falls jedoch beim Selbsttest Fehler auftreten, wird der Lauf nicht automatisch gestartet.

HINWEIS Wenn die Temperatur des Reagenzienkühlers außerhalb des zulässigen Bereichs liegt, kann dies den Start des Sequenzierungslaufs verhindern. Siehe [Beheben von Temperaturfehlern des Reagenzienkühlers auf Seite 46](#).

Wichtiger Hinweis vor dem Starten des Laufs



WARNUNG

Das MiSeqDx ist empfindlich gegenüber Erschütterungen. Eine Berührung des Geräts nach dem Start eines Laufs könnte sich nachteilig auf die Sequenzierungsergebnisse auswirken.

Nachdem Sie die Reagenzienkartusche geladen und die Klappe der Reagenzienkammer geschlossen haben, dürfen Sie weder die Fließzellenkammer noch die Klappe der Reagenzienkammer öffnen. Berühren Sie den Gerätebildschirm nicht, es sei denn, Sie müssen den Lauf anhalten. Weitere Informationen finden Sie unter [Unterbrechen eines Laufs auf Seite 40](#).



WARNUNG

Bevor Sie einen Lauf starten, alle Dateien auf dem MiSeqDx schließen und keine Dateien während des Laufs öffnen.

Überwachen des Laufs

Überwachen Sie während eines Laufs die Laufdetails mithilfe des Sequenzierungsbildschirms am Gerät. Der Sequenzierungsbildschirm ist schreibgeschützt.

Sie können den Lauf auch über Local Run Manager aus der Ferne überwachen, wenn das Gerät mit demselben Netzwerk verbunden ist.

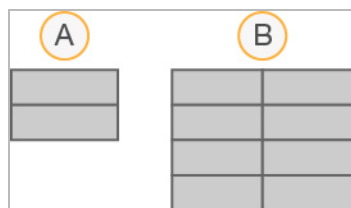
Local Run Manager zeigt den Lauffortschritt und Sequenzierungsinformationen an („Total Clusters“ [Gesamtzahl der Cluster], „% Clusters PF“ [Prozentsatz der Cluster nach Filterung], prozentualer Anteil von Read 1 und Read 2 % $\geq$ Q30 und „Last Scored Cycle“ [Letzter Zyklus mit Score]). Weitere Informationen finden Sie [Local Run Manager-Software auf Seite 5](#).

1. Auf dem Sequenzierungsbildschirm des Geräts können Sie den Lauffortschritt, Intensitäten und Qualitäts-Scores überwachen.

- **Run Progress** (Lauffortschritt): Zeigt den Lauffortschritt in einer Statusleiste an und listet die Anzahl der abgeschlossenen Zyklen auf.
- **Intensity** (Intensität): Zeigt den Wert der Clusterintensitäten auf der 90. Perzentile für jede Platte an.

Die Grafik im Bereich „Intensity“ (Intensität) stellt die Anzahl der aufgenommenen Platten dar.

- Wenn nur die obere Oberfläche der Fließzelle aufgenommen wird, wird eine Grafik mit einer Spalte angezeigt.
- Wenn die obere und die untere Oberfläche der Fließzelle aufgenommen werden, wird eine Grafik mit zwei Spalten angezeigt.



- A. Zeigt zwei Platten an, nur obere Oberfläche
 - B. Zeigt vier Platten an, obere und untere Oberfläche
- **Q-Score All Cycles** (Q-Score aller Zyklen): Zeigt den durchschnittlichen Prozentsatz der Basen an, deren Q-Score größer als Q30 ist. Ein Qualitäts-Score (Q-Score) ist eine Prognose der Wahrscheinlichkeit eines falschen Base-Calls. Q-Scores werden nach Zyklus 25 berechnet.

Q-Score	Wahrscheinlichkeit eines falschen Base-Calls
Q40	1 von 10.000
Q30	1 von 1000
Q20	1 von 100
Q10	1 von 10

- **Cluster Density (K/mm²)** (Clusterdichte (K/mm²)): Zeigt die Anzahl an Clustern pro Quadratmillimeter für den Lauf an. Die optimale Clusterdichte beträgt 800 K/mm².

HINWEIS Die Reinheit eines Base-Calls ist das Verhältnis der Intensität des größten Signals dividiert durch die Summe der zwei größten Signale. Reads passieren den Qualitätsfilter nicht, wenn es mehr als einen Base-Call mit einem Reinheitswert von weniger als 0,6 in den ersten 25 Zyklen gibt.

- **Estimated Yield (Mb)** (Geschätzte Menge [Mb]): Zeigt die beabsichtigte Anzahl der Base-Calls für den Lauf an, gemessen in Megabasen. Diese Daten werden erst nach Zyklus 25 angezeigt.

2. Wenn der Lauf abgeschlossen ist, wird die Schaltfläche „Next“ (Weiter) angezeigt. Überprüfen Sie die Ergebnisse im Sequenzierungsbildschirm, bevor Sie fortfahren.

HINWEIS Der Sequenzierungsbildschirm bleibt sichtbar, bis „Next“ (Weiter) ausgewählt wird. Nachdem Sie „Next“ (Weiter) ausgewählt haben, können Sie nicht mehr zum Sequenzierungsbildschirm zurückkehren.

3. Wählen Sie **Next** (Weiter), um den Sequenzierungsbildschirm zu schließen und mit einer Nachwaschung fortzufahren.

Matrizenbildung

Real-Time Analysis (RTA) verwendet die ersten vier Zyklen des Sequenzierungslaufs zur Matrizenbildung. Bei der Matrizenbildung werden Clusterpositionen über die gesamte Fließzellenoberfläche anhand von X- und Y-Koordinaten definiert.

Nachdem die Matrize mit Clusterpositionen erstellt wurde, werden die bei jedem nachfolgenden Zyklus der Bildgebung produzierten Bilder auf Basis der Matrize ausgerichtet. Einzelne Clusterintensitäten in allen vier Nukleotid-Farbkanälen werden extrahiert und Base-Calls werden auf der Grundlage der normalisierten Clusterintensitäten produziert.

Laufkennzahlen

Laufkennzahlen werden an verschiedenen Punkten eines Laufs auf dem Sequenzierungsbildschirm angezeigt. Während der Schritte für die Clusterbildung werden keine Kennzahlen angezeigt.

Nach Beginn der Sequenzierung werden die folgenden Kennzahlen bei den angegebenen Zyklen angezeigt:

Zyklus	Metrik
Zyklus 1–4	Intensität
Zyklus 4–25	Intensität und Clusterdichte
Zyklus 25 bis Abschluss des Laufs	Intensität, Clusterdichte, % PF, Menge und Q-Scores

Durchführen einer Nachwaschung

Die Nachwaschung ist ein Standardgerätewaschlauf, der zwischen Sequenzierungsläufen durchgeführt wird. Führen Sie nach jedem Sequenzierungslauf einen Gerätewaschlauf durch. Befolgen Sie die Anweisungen der Software zum Laden der Waschlaufkomponenten und Durchführen des Waschlaufs. Die Nachwaschung dauert etwa 20 Minuten.

Starten Sie den Waschlauf direkt nach dem Lauf. Um einen weiteren Lauf konfigurieren zu können, muss zunächst ein Gerätewaschlauf durchgeführt werden. Wenn Sie eine Nachwaschung zu einem anderen Zeitpunkt als direkt nach einem Lauf durchführen müssen, verwenden Sie den Befehl im Bildschirm „Perform Wash“ (Waschlauf durchführen), um den Waschlauf zu initiieren.

Durch regelmäßige Gerätewaschläufe wird die kontinuierliche Leistungsfähigkeit des Geräts wie folgt sichergestellt:

- Gegebenenfalls vorhandene Reagenzienreste werden aus den Fluidikleitungen und Sippeln gespült.
- Eine Ansammlung von Salz und Kristallisation in den Fluidikleitungen und Sippeln wird verhindert.
- Eine Kreuzkontaminierung aus dem vorherigen Lauf wird verhindert.

Sie haben die Option, eine Nachwaschung einschließlich eines Matrizenleitungswaschlaufs mit einer Natriumhypochloritlösung (NaOCl) durchzuführen. Der Waschlauf dauert etwa 30 Minuten. Siehe [Verfahren mit Matrizenleitungswaschlauf auf Seite 29](#).

HINWEIS Lassen Sie die gebrauchte Fließzelle im Gerät. Für einen Gerätewaschlauf muss sich eine Fließzelle im Gerät befinden.

Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, Katalog-Nr. P7949)
- Wasser in Laborqualität
- NaOCl (für Nachwaschungen mit Matrizenleitungswaschlauf)
- MiSeq Röhrchen (Artikelnr. MS-102-9999) (für Nachwaschungen, die einen Matrizenleitungswaschlauf beinhalten)

Verfahren

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor:
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.
 - b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie mehrmals den Behälter zum Mischen.
2. Bereiten Sie die Waschlaufkomponenten mit einer frischen Waschlösung mit 0,5 % Tween 20 wie folgt vor:
 - a. Füllen Sie in jeden Behälter der Waschablage 6 ml Waschlösung.
 - b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.
3. Wählen Sie im Nachwaschungsbildschirm **Start Wash** (Waschlauf starten). Die Software hebt automatisch die Sipper im Reagenzienkühler an. Warten Sie mehrere Sekunden, um sicherzustellen, dass die Sipper vollständig angehoben sind, bevor Sie fortfahren.

Wählen Sie **nicht Perform optional template line wash** (Optionalen Matrizenleitungswaschlauf durchführen) im Nachwaschungsbildschirm. Zum Durchführen eines Matrizenleitungswaschlaufs sind andere Schritte erforderlich. Siehe [Verfahren mit Matrizenleitungswaschlauf auf Seite 29](#).

4. Öffnen Sie die Klappe der Reagenzienkammer und des Reagenzienkühlers und schieben Sie die gebrauchte Reagenzienkartusche aus dem Reagenzienkühler.
5. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler und schließen Sie dann die Klappe des Reagenzienkühlers.
6. Heben Sie den Sipper-Griff vor der MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche und der Abfallflasche an, bis er einrastet.
7. Entfernen Sie die MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche und setzen Sie die Waschflasche ein.

HINWEIS Die MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche nach jedem Lauf entsorgen. Verbleibendes MiSeqDx SBS Solution (PR2) darf nicht wiederverwendet werden.

8. Entfernen Sie die Abfallflasche und entsorgen Sie den Inhalt ordnungsgemäß. Setzen Sie die Abfallflasche wieder in die Reagenzienkammer ein.



WARNUNG

Diese Reagenzien enthalten potenziell gesundheitsschädliche Chemikalien. Personen können sich durch Einatmen, Verschlucken oder durch Kontakt mit der Haut oder den Augen verletzen. Die Belüftung sollte für den Umgang mit gefährlichen Materialien in Reagenzien geeignet sein. Tragen Sie eine dem Expositionsrisiko entsprechende Schutzausrüstung, insbesondere Schutzbrille, Handschuhe und Laborkittel. Verbrauchte Reagenzien sind als chemische Abfälle zu behandeln. Entsorgen Sie sie daher gemäß den geltenden regionalen, nationalen und lokalen Gesetzen und Vorschriften. Zusätzliche umwelt-, gesundheits- und sicherheitsbezogene Informationen finden Sie in den Sicherheitsdatenblättern (SDB) unter support.illumina.com/sds.html.

9. Drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten und stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
10. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
11. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus. Die Nachwaschung beginnt.

Wenn der Waschlauf abgeschlossen ist, lassen Sie die gebrauchte Fließzelle, die Waschablage und die Waschflasche mit der übrigen Waschlösung im Gerät.

HINWEIS Die Sipper bleiben in der unteren Position, was normal ist. Lassen Sie die nicht verwendete Waschlösung in der Waschablage und der Waschflasche, um das Austrocknen der Sipper und das Eindringen von Luft in das System zu verhindern.

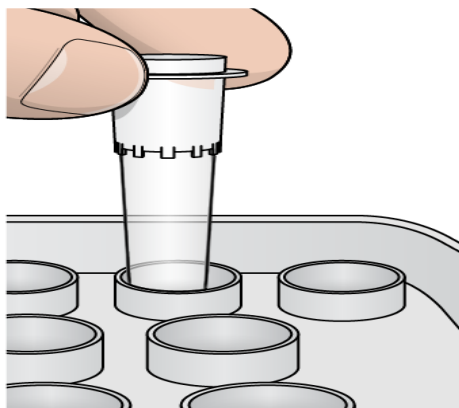
Verfahren mit Matrizenleitungswaschlauf

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor.
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.
 - b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie fünf Mal, um die Lösung zu mischen.
2. Bereiten Sie eine frische NaOCl-Waschlösung mit Wasser in Laborqualität wie folgt vor:
 - a. 36 µl 5%iges NaOCl zu 864 µl Wasser in Laborqualität dazugeben. Diese Volumina ergeben eine im Verhältnis 1:25 verdünnte NaOCl-Lösung.
 - b. In ein MiSeq Röhrchen (Artikelnr. MS-102-9999) 50 µl 1:25-NaOCl-Lösung zu 950 µl Wasser in Laborqualität geben.

HINWEIS Die Verwendung der korrekten Konzentration von NaOCl ist sehr wichtig. Prüfen Sie den Prozentwert für NaOCl auf dem Produktetikett. Wenn die Konzentration zu hoch ist, schlägt die Clusterbildung in den nachfolgenden Läufen ggf. fehl. Falls kein 5%iges NaOCl zur Verfügung steht, bereiten Sie 1 ml Lösung aus 0,01%igem NaOCl in Wasser in Laborqualität vor. Verwenden Sie NaOCl nicht für Wartungs- oder Standby-Waschläufe.

3. Bereiten Sie die Waschlaufkomponenten mit einer frischen Waschlösung wie folgt vor.
 - a. 6 ml Waschlösung in jeden Behälter der Waschablage füllen, mit Ausnahme des Behälters mit der Nummer 17.

Abbildung 15 MiSeq Röhrchen in Position 17 der Waschablage



HINWEIS Stellen Sie sicher, dass Sie das MiSeq Röhrchen mit NaOCl nur in Position 17 platzieren. Beim Einsetzen des Röhrchens an einer anderen Position schlägt die Clusterbildung in den nachfolgenden Läufen ggf. fehl und das Fluidsystem des MiSeqDx-Geräts kann beschädigt werden.

4. Wenn der Lauf beendet ist, wählen Sie **Start Wash** (Waschlauf starten). Die Software hebt automatisch die Sipper im Reagenzienkühler an.
5. Wählen Sie im Nachwaschungsbildschirm die Option **Perform optional template line wash** (Optionalen Matrizenleitungswaschlauf durchführen).
Beim Durchführen des VeriSeq PGS-Workflows wird die Option **Perform optional template line wash** (Optionalen Matrizenleitungswaschlauf durchführen) automatisch aktiviert. Die MCS-Software prüft nach jedem Lauf, welcher Nachwaschungstyp durchgeführt wurde. Wenn die Option **Perform optional template line wash** (Optionalen Matrizenleitungswaschlauf durchführen) **für die Nachwaschung nicht ausgewählt ist**, wird im Laufüberprüfungsbildschirm ein entsprechender Hinweis angezeigt, wenn Sie den nächsten Sequenzierungslauf starten.
6. Öffnen Sie die Klappe der Reagenzienkammer und des Reagenzienkühlers und schieben Sie die gebrauchte Reagenzienkartusche aus dem Reagenzienkühler.
7. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler und schließen Sie dann die Klappe des Reagenzienkühlers.
8. Heben Sie den Sipper-Griff vor der MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche und der Abfallflasche an, bis er einrastet.
9. Entfernen Sie die MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche und setzen Sie die Waschflasche ein.

HINWEIS Die MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche nach jedem Lauf entsorgen. Verbleibendes MiSeqDx SBS Solution (PR2) darf nicht wiederverwendet werden.

10. Entfernen Sie die Abfallflasche und entsorgen Sie den Inhalt ordnungsgemäß. Setzen Sie die Abfallflasche wieder in die Reagenzienkammer ein.



WARNUNG

Diese Reagenzien enthalten potenziell gesundheitsschädliche Chemikalien. Personen können sich durch Einatmen, Verschlucken oder durch Kontakt mit der Haut oder den Augen verletzen. Tragen Sie eine dem Expositionsrisiko entsprechende Schutzausrüstung, insbesondere Schutzbrille, Handschuhe und Laborkittel. Verbrauchte Reagenzien sind als chemische Abfälle zu behandeln. Entsorgen Sie sie daher gemäß den geltenden regionalen, nationalen und lokalen Gesetzen und Vorschriften. Weitere umwelt-, gesundheits- und sicherheitsbezogene Informationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt (SDS, Safety Data Sheet) unter support.illumina.com/sds.html.

11. Drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten und stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.

12. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.

13. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus. Die Nachwaschung beginnt.

Wenn der Waschlauf abgeschlossen ist, lassen Sie die gebrauchte Fließzelle, die Waschablage und die Waschflasche mit der übrigen Waschlösung im Gerät.

HINWEIS Die Sipper bleiben in der unteren Position, was normal ist. Die nicht verwendete Waschlösung in der Waschablage und der Waschflasche lassen, damit der Sipper nicht trocknet und keine Luft in das System eindringt.

b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.

14. Setzen Sie das MiSeq Röhrchen mit 0,01%iger NaOCl-Waschlösung in Behälter 17 der Waschablage ein, bis der Hals des Röhrchens bündig mit der Ablage abschließt.

Wartung

Wartungshäufigkeit

Führen Sie die in diesem Kapitel beschriebenen Wartungsaktivitäten zu den Intervallen durch, die in den folgenden Tabellen aufgeführt sind.

Tabelle 1 Wartung während des normalen Betriebs

Aktivität	Monatlich	Nach Bedarf
Wartungswaschlauf	X	
Standby-Waschlauf		Zur Vorbereitung auf den Leerlauf (≥ 7 Tage unbenutzt)
Ausschalten des Geräts		X

Tabelle 2 Wartung während des Leerlaufs (mindestens sieben Tage nicht verwendet)

Aktivität	Monatlich	Nach Bedarf
Standby-Waschlauf	X	
Ausschalten des Geräts		X

Präventive Wartung

Illumina empfiehlt eine präventive Wartung pro Kalenderjahr. Wenn Sie keinen Servicevertrag abgeschlossen haben, wenden Sie sich an den für Ihre Region zuständigen Kundenbetreuer oder an den technischen Support von Illumina, um einen Termin für eine kostenpflichtige präventive Wartung zu vereinbaren.

Durchführen eines Wartungswaschlaufs

Führen Sie alle 30 Tage einen Wartungswaschlauf durch, um eine optimale Leistung sicherzustellen. Der Wartungswaschlauf dauert ca. 90 Minuten. Für den Waschlauf sind drei Waschschrte erforderlich, bei denen das System mithilfe einer Waschlösung aus Tween 20 und Wasser in Laborqualität gründlich gespült wird.

Sie können Ihr Gerät so konfigurieren, dass statt einer Nachwaschung ein Wartungswaschlauf zwischen zwei Läufen durchgeführt wird. Siehe [Festlegen der Nachwaschungsoption auf Seite 9](#).

Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, Katalog-Nr. P7949)
- Wasser in Laborqualität

**VORSICHT**

Schließen Sie nach dem Befüllen der Waschablage und vor dem Starten eines Waschlaufs stets die Klappe des Reagenzienkühlers. Dieser Schritt verhindert, dass Ihre Hände durch die sich herabsenkenden Sipper verletzt werden.

Verfahren

1. Stellen Sie sicher, dass sich eine gebrauchte Fließzelle im Gerät befindet.
2. Wählen Sie im Startbildschirm **Perform Wash** (Waschlauf durchführen).
3. Wählen Sie im Bildschirm „Perform Wash“ (Waschlauf durchführen) die Option **Maintenance Wash** (Wartungswaschlauf). Die Software hebt automatisch die Sipper im Reagenzienkühler an.

HINWEIS Verwenden Sie stets für jeden der Waschschriffe eine frische Waschlösung. Wenn Waschlösung aus dem vorausgegangenen Waschlauf wiederverwendet wird, kann Abfall erneut in die Fluidikleitungen gelangen.

Durchführen des ersten Waschlaufs

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor.
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.
 - b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie mehrmals den Behälter zum Mischen.
2. Bereiten Sie die Waschlaufkomponenten mit einer frischen Waschlösung mit 0,5 % Tween 20 wie folgt vor:
 - a. Füllen Sie in jeden Behälter der Waschablage 6 ml Waschlösung.
 - b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.
3. Laden Sie die Waschablage und die Waschflasche in das Gerät:
 - a. Öffnen Sie die Klappe der Reagenzienkammer und des Reagenzienkühlers und schieben Sie die gebrauchte Reagenzienkartusche oder Waschablage aus dem Reagenzienkühler.
 - b. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.
 - c. Den Sipper-Griff vor der MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche und der Abfallflasche anheben, bis er einrastet; die MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche wieder gegen die Waschflasche austauschen.

HINWEIS Die MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche nach jedem Lauf entsorgen. Verbleibendes MiSeqDx SBS Solution (PR2) darf nicht wiederverwendet werden.

- d. Entfernen Sie die Abfallflasche und entsorgen Sie den Inhalt ordnungsgemäß. Setzen Sie die Abfallflasche wieder in die Reagenzienkammer ein.
 - e. Drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten und stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
 - f. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
4. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus. Der erste Waschlauf beginnt.

Durchführen des zweiten Waschlaufs

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor:
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.
 - b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie mehrmals den Behälter zum Mischen.
2. Wenn der erste Waschlauf abgeschlossen ist, entfernen Sie die Waschablage und die Waschflasche und entsorgen Sie die verbleibende Waschlösung.
3. Füllen Sie die Waschlaufkomponenten wie folgt erneut mit einer frischen Waschlösung mit 0,5 % Tween 20:
 - a. Füllen Sie in jeden Behälter der Waschablage 6 ml Waschlösung.
 - b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.
4. Laden Sie die Waschablage und Waschflasche wie folgt:
 - a. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.
 - b. Laden Sie die Waschflasche und drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten. Stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
 - c. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
5. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus. Der zweite Waschlauf beginnt.

Durchführen des letzten Waschlaufs

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor:
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.

- b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie mehrmals den Behälter zum Mischen.
2. Wenn der zweite Waschlauf abgeschlossen ist, entfernen Sie die Waschablage und die Waschflasche und entsorgen Sie die verbleibende Waschlösung.
3. Füllen Sie die Waschlaufkomponenten wie folgt erneut mit einer frischen Waschlösung mit 0,5 % Tween 20:
 - a. Füllen Sie in jeden Behälter der Waschablage 6 ml Waschlösung.
 - b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.
4. Laden Sie die Waschablage und Waschflasche wie folgt:
 - a. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.
 - b. Laden Sie die Waschflasche und drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten. Stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
 - c. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
5. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus. Der letzte Waschlauf beginnt.

Nach dem Waschlauf

Wenn der Waschlauf abgeschlossen ist, lassen Sie die gebrauchte Fließzelle, die Waschablage und die Waschflasche mit der übrigen Waschlösung im Gerät.

HINWEIS Die Sipper bleiben in der unteren Position, was normal ist. Lassen Sie die nicht verwendete Waschlösung in der Waschablage und der Waschflasche, um das Austrocknen der Sipper und das Eindringen von Luft in das System zu verhindern.

Durchführen eines Standby-Waschlaufs

Wenn Sie das Gerät innerhalb der nächsten sieben Tage nicht verwenden möchten, bereiten Sie es über das Durchführen eines Standby-Waschlaufs auf den Leerlaufmodus vor. Der Standby-Waschlauf bereitet die Fluidikleitungen auf den Leerlaufmodus vor und führt zwei aufeinanderfolgende Waschläufe aus. Dabei werden aus allen Positionen vorhandene Reagenzienreste oder Salzansammlungen herausgespült. Jeder Waschlauf dauert etwa 60 Minuten. Planen Sie etwa zwei Stunden für die Durchführung des Standby-Waschlaufs ein.

Wenn der Standby-Waschlauf abgeschlossen ist, befindet sich das Gerät im Standby-Modus und im Startbildschirm wird eine Meldung angezeigt, die den Status des Geräts angibt. Wenn sich das Gerät im Standby-Modus befindet, muss ein Wartungswaschlauf durchgeführt werden, bevor ein Sequenzierungslauf initiiert werden kann.

HINWEIS Illumina empfiehlt eine Wiederholung des Standby-Waschlaufs *alle 30 Tage*, in denen das Gerät nicht genutzt wird.

Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, Katalog-Nr. P7949)
- Wasser in Laborqualität oder deionisiertes Wasser (Richtlinien für Wasser in Laborqualität finden Sie im *MiSeqDx Handbuch zur Standortvorbereitung (Dokument-Nr. 15070066)*)

Verfahren

1. Stellen Sie sicher, dass sich eine gebrauchte Fließzelle im Gerät befindet.
2. Wählen Sie im Startbildschirm **Perform Wash** (Waschlauf durchführen).
3. Wählen Sie im Bildschirm „Wash Options“ (Waschoptionen) die Option **Standby Wash** (Standby-Waschlauf). Die Software hebt automatisch die Sipper im Reagenzienkühler an.

HINWEIS Verwenden Sie stets für jeden der Waschschriffe eine frische Waschlösung. Wenn Waschlösung aus dem vorausgegangenen Waschlauf wiederverwendet wird, kann Abfall erneut in die Fluidikleitungen gelangen.

Durchführen des ersten Waschlaufs

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor.
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.
 - b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie mehrmals den Behälter zum Mischen.
2. Bereiten Sie die Waschlaufkomponenten mit einer frischen Waschlösung mit 0,5 % Tween 20 wie folgt vor:
 - a. Füllen Sie in jeden Behälter der Waschablage 6 ml Waschlösung.
 - b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.
3. Laden Sie die Waschablage und die Waschflasche in das Gerät:
 - a. Öffnen Sie die Klappe der Reagenzienkammer und des Reagenzienkühlers und schieben Sie die gebrauchte Reagenzienkartusche oder Waschablage aus dem Reagenzienkühler.
 - b. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.

- c. Den Sipper-Griff vor der MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche und der Abfallflasche anheben, bis er einrastet; die MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche wieder gegen die Waschflasche austauschen.

HINWEIS Die MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche nach jedem Lauf entsorgen. Verbleibendes MiSeqDx SBS Solution (PR2) darf nicht wiederverwendet werden.

- d. Entfernen Sie die Abfallflasche und entsorgen Sie den Inhalt ordnungsgemäß. Setzen Sie die Abfallflasche wieder in die Reagenzienkammer ein.
 - e. Drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten und stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
 - f. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
4. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus. Der erste Waschlauf beginnt.

Durchführen des zweiten Waschlaufs

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor:
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.
 - b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie mehrmals den Behälter zum Mischen.
2. Wenn der erste Waschlauf abgeschlossen ist, entfernen Sie die Waschablage und die Waschflasche und entsorgen Sie die verbleibende Waschlösung.
3. Füllen Sie die Waschlaufkomponenten wie folgt erneut mit einer frischen Waschlösung mit 0,5 % Tween 20:
 - a. Füllen Sie in jeden Behälter der Waschablage 6 ml Waschlösung.
 - b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.
4. Laden Sie die Waschablage und Waschflasche wie folgt:
 - a. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.
 - b. Laden Sie die Waschflasche und drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten. Stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
 - c. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
5. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus. Der zweite Waschlauf beginnt.

Nach dem Waschlauf

Wenn der Waschlauf abgeschlossen ist, lassen Sie die gebrauchte Fließzelle, die Waschablage und die Waschflasche mit der übrigen Waschlösung im Gerät.

HINWEIS Die Sipper bleiben in der unteren Position, was normal ist. Lassen Sie die nicht verwendete Waschlösung in der Waschablage und der Waschflasche, um das Austrocknen der Sipper und das Eindringen von Luft in das System zu verhindern.

Ausschalten des Geräts

Es empfiehlt sich, das Gerät immer eingeschaltet zu lassen. Wenn das Gerät jedoch ausgeschaltet werden muss, führen Sie die folgenden Schritte aus, um Windows zu beenden und die Fluidikleitungen vorzubereiten.

1. Führen Sie einen Wartungswaschlauf durch. Weitere Informationen finden Sie unter [Verfahren auf Seite 33](#).
2. Entfernen Sie die Abfallflasche und entsorgen Sie den Inhalt ordnungsgemäß. Setzen Sie die Abfallflasche wieder in die Reagenzienkammer ein.
3. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
4. Wählen Sie im Hauptmenü **Shut Down Instrument** (Gerät ausschalten). Daraufhin wird die Software beendet.
5. Schalten Sie den Netzschalter aus.

HINWEIS Warten Sie, wenn Sie das Gerät ausschalten, *mindestens* 60 Sekunden, bevor Sie den Netzschalter wieder einschalten.

Fehlerbehebung

Einleitung

In diesem Abschnitt sind die Schritte zur Behebung häufiger Fehler beschrieben, die Sie ausführen müssen, bevor Sie sich an den technischen Support von Illumina wenden. Bei den meisten Fehlern werden Anweisungen zur Behebung des Fehlers auf dem Bildschirm angezeigt.

Besuchen Sie bei technischen Fragen die [MiSeqDx Supportseiten](#) auf der Illumina-Support-Website. Die Supportseiten bieten Zugriff auf Dokumentation, Downloads und häufig gestellte Fragen. Melden Sie sich für den Zugang zu Supportbulletins bei Ihrem Konto bei My Illumina an.

Bei Problemen mit der Laufqualität oder der Leistung an den technischen Support von Illumina wenden. Weitere Informationen finden Sie unter [Technische Unterstützung auf Seite 51](#).

In der Regel fragen Mitarbeiter des technischen Supports von Illumina zu Fehlerbehebungszwecken nach Kopien von laufspezifischen Dateien. Sie können die Funktion „Bundle Logs“ (Protokollbündel) im Bildschirm „Manage Files“ (Dateien verwalten) verwenden, um die zur Fehlerbehebung benötigten Dateien zu gruppieren und in einer ZIP-Datei zu speichern.

Bundle Logs (Protokollbündel) für die Fehlerbehebung

„Bundle Logs“ (Protokollbündel) ist eine Funktion zum Bündeln von Dateien, um sie zwecks Fehlerbehebung an den technischen Support von Illumina zu senden. Verwenden Sie die Registerkarte „Bundle Logs“ (Protokollbündel) im Bildschirm „Manage Files“ (Dateien verwalten), um eine Gruppe von Dateien, ein so genanntes *Bundle* (Bündel), auszuwählen. Das Bündel wird automatisch in einer ZIP-Datei gespeichert.

Die Funktion „Bundle Logs“ (Protokollbündel) gruppiert die Dateien eines Laufs jeweils in einem Bündeltyp. Wiederholen Sie den „Bundle Logs“-Vorgang für jeden Lauf und Bündeltyp, den der technische Support von Illumina anfordert.

1. Wählen Sie im Bildschirm „Manage Files“ (Dateien verwalten) die Registerkarte **Bundle Logs** (Protokollbündel) aus.
2. Wählen Sie **Browse** (Durchsuchen), um zum Speicherort des Ordners „MiSeqOutput“ zu navigieren.
3. Aktivieren Sie das Kontrollkästchen neben dem Lauf.
4. Wählen Sie **Bundle Logs** (Protokollbündel).

Der Bildschirm „Bundle Files“ (Dateien bündeln) wird geöffnet. Er enthält Informationen über das Bündel, darunter eine Liste der einzelnen Dateien im Bündel.

Weitere Informationen zu den einzelnen Ordnern und Dateien der Funktion „Bundle Logs“ (Protokollbündel) finden Sie in der *Schnellreferenzkarte zu MiSeq Ausgabe- und Analyseordnern* (Dokument-Nr. 15034791).

5. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus.

6. Navigieren Sie zu dem Speicherort, an dem Sie die ZIP-komprimierten Bündeldateien speichern möchten.
7. Wählen Sie **Save** (Speichern) aus.
Wenn das Bündeln der Dateien abgeschlossen ist, wird erneut die Registerkarte „Bundle Logs“ (Protokollbündel) geöffnet.
8. Senden Sie das Bündel als ZIP-Datei an den technischen Support von Illumina.

Durchführen einer Systemprüfung

Einige Systemprüfungen können durchgeführt werden, bevor Sie sich an den technischen Support von Illumina wenden, z. B. der Volumentest. Bei einem Volumentest wird der Zustand des Fluidiksystems überprüft, indem das Fließvolumen anhand der Blasen, die die Sensoren passieren, geschätzt wird. Weitere Informationen finden Sie unter [Durchführen eines Volumentests auf Seite 45](#).



VORSICHT

Der Kipp-/Neigetest und der vollständige Optiktest erfordern eine spezielle Fließzelle und darf nur von Illumina-Technikern durchgeführt werden.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Check** (Systemprüfung).
2. Verfahren Sie nach einer der folgenden Anweisungen:
 - Wählen Sie die einzelnen Tests aus, die Sie durchführen möchten.
 - Wählen Sie **Select All** (Alle auswählen), um alle Tests durchzuführen.
3. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus.
Nach Abschluss der Tests werden die Ergebnisse auf dem Bildschirm angezeigt.
4. **[Optional] Show Details** (Details anzeigen) auswählen, um eine Zusammenfassung der Ergebnisse in der Software-Benutzeroberfläche anzeigen zu lassen.
5. **[Optional] Export Results** (Ergebnisse exportieren) auswählen, um die Ergebnisse in eine CSV-Datei auf einem USB-Stick zu exportieren.
6. Wählen Sie **Done** (Fertig).

Unterbrechen oder Anhalten eines Laufs

Das MiSeqDx ist darauf ausgelegt, einen Lauf von Anfang bis Ende ohne Aktionen seitens des Benutzers auszuführen. Es ist jedoch möglich, einen Lauf über den Sequenzierungsbildschirm zu unterbrechen oder anzuhalten.

Unterbrechen eines Laufs

Sie können einen Lauf vorübergehend unterbrechen, bevor er abgeschlossen ist. Sie können dies beispielsweise tun, wenn Sie glauben, dass die Abfallflasche voll ist. Unterbrochene Läufe können wieder aufgenommen werden.

Wenn Sie **Pause** (Unterbrechen) wählen, wird der aktuelle Befehl zu Ende ausgeführt. Anschließend wird der Lauf unterbrochen und die Fließzelle in einen sicheren Zustand versetzt.



VORSICHT

Einen Lauf *nicht* während der Clusterbildung oder innerhalb der ersten fünf Zyklen der Sequenzierung unterbrechen. Ein Lauf, der in dieser Phase unterbrochen wurde, kann nicht fortgesetzt werden.

Um einen Lauf vom Sequenzierungsbildschirm aus zu unterbrechen, wählen Sie **Pause** (Unterbrechen). Die Schaltfläche ändert sich in **Resume** (Fortsetzen). Wenn Sie bereit sind, den Lauf fortzusetzen, wählen Sie **Resume** (Fortsetzen).

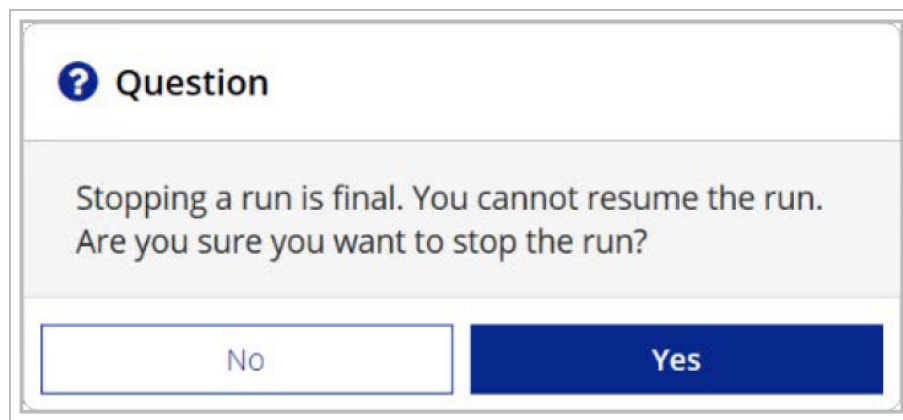
Anhalten eines Laufs

Während des Sequenzierungsvorgangs können Sie mithilfe der Schaltfläche **Stop** (Anhalten) im Sequenzierungsbildschirm einen Lauf stoppen, bevor er abgeschlossen ist. Sie können einen Lauf beispielsweise stoppen, wenn er falsch konfiguriert wurde, die Datenqualität schlecht ist oder ein Hardwarefehler auftritt.

Wenn ein Lauf angehalten wird, wird der aktuelle Befehl nicht zu Ende ausgeführt und der Fließzellentisch fährt in die Vorwärtsposition. Die Primäranalyse wird für den letzten abgeschlossenen Zyklus fortgesetzt.

Um einen Lauf vom Sequenzierungsbildschirm aus anzuhalten, wählen Sie **Stop** (Anhalten).

Abbildung 16 Anhalten eines Laufs



Das Anhalten eines Laufs ist endgültig. Ein angehaltener Lauf kann nicht fortgesetzt werden. Sie haben nur die Möglichkeit, mit einem Gerätewaschlauf fortzufahren.

Manuelles Anheben der Sipper einer Reagenzienkartusche

Die Sipper der Reagenzienkartusche werden möglicherweise nicht automatisch angehoben, wenn ein Lauf unerwartet unterbrochen wird oder ein Fehler während des Laufs auftritt. Um die Reagenzienkartusche zu entfernen, heben Sie die Sipper der Reagenzienkartusche manuell an.

1. Wählen Sie im Startbildschirm **Perform Wash** (Waschlauf durchführen).
2. Wählen Sie **Raise Sippers** (Sipper anheben).
3. Entfernen Sie die Reagenzienkartusche.

Beheben von Laufkonfigurationsfehlern

Wenn Prüfungen des Selbsttests fehlschlagen, wird ein rotes Symbol **✗** neben dem entsprechenden Element angezeigt. Auf dem Bildschirm wird eine Meldung angezeigt, die eine Beschreibung des Fehlers und der zur Behebung des Fehlers erforderlichen Maßnahme enthält.

Fehler	Aktion
✗ Flow Rate Measured (Gemessene Fließrate)	<p>Der Bildschirm zum Prüfen der Fließrate wird geöffnet. Geben Sie mithilfe der Dropdown-Liste oder der Bildschirmtastatur Folgendes ein:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Lösung: PR2 • Volumen: 250 • Aspirate Rate (Aspirationsrate): 2500 • Dispense Rate (Zufuhrtrate): 2500 <p>Wählen Sie Pump (Pumpe). Falls der Fehler weiterhin besteht, ein Pumpvolumen von 500 µl MiSeqDx SBS Solution (PR2) festlegen und den Vorgang wiederholen. Wenn Flüssigkeiten gepumpt wurden, wählen Sie Restart Check (Prüfung neu starten).</p> <p>Wenn der Selbsttest erfolgreich verläuft, wird die Schaltfläche Start Run (Lauf starten) aktiviert.</p> <p>Falls die Flussprüfung erneut fehlschlägt, platzieren Sie die Fließzelle erneut, um sicherzustellen, dass der Fluss nicht aufgrund einer falschen Ausrichtung unterbrochen wurde. Überprüfen Sie die Fließzellendichtung auf Fusseln oder Unregelmäßigkeiten.</p>
✗ Free Disk Space (Speicherplatz freigeben)	<p>Bei geringem Speicherplatz wird eine Meldung angezeigt, die angibt, wie viel Speicherplatz erforderlich ist. Mit der Funktion Manage Files (Dateien verwalten) können Sie den erforderlichen Speicherplatz auf dem Gerätecomputer frei machen.</p>

Fehler	Aktion
✗ Network Connection Active (Netzwerkverbindung aktiv)	Stellen Sie sicher, dass das Netzkabel an das Gerät angeschlossen ist. Wenn die Netzwerkverbindung nicht wiederhergestellt wird, wählen Sie im Bildschirm „Manage Instrument“ (Gerät verwalten) die Option Reboot (Neustart), um die Software neu zu starten. Falls die Verbindung weiterhin nicht wiederhergestellt wird, wählen Sie im Bildschirm „Manage Instrument“ (Gerät verwalten) die Option Shut Down (Ausschalten) und schalten Sie das Gerät anschließend über den Netzschalter aus. Warten Sie mindestens 60 Sekunden. Schalten Sie dann das Gerät ein und starten Sie die Software.
✗ Primary Analysis Ready (Primäranalyse bereit)	Die Primäranalyse aus dem vorherigen Lauf ist noch nicht abgeschlossen. Standardmäßig ist eine Stunde für das Abschließen der Primäranalyse vorgesehen. Auf dem Bildschirm wird ein Countdown angezeigt. Sie haben die Möglichkeit, eine Stunde zu warten oder Terminate Analysis (Analyse beenden) zu wählen. Die Sekundäranalyse stoppt bei unvollständigen Zyklen.

Beheben von RFID-Lesefehlern

RFID-Fehler werden in den folgenden Fällen ausgelöst:

- Wenn die geladene Komponente nicht zu einem *In-vitro*-Diagnose-Kit gehört.
- Die geladene Komponente gehört nicht zu dem Kit, das im Local Run Manager-Modul angegeben ist.
- Wenn beim Lesen des RFID-Etiketts auf der Komponente ein technischer Fehler vorliegt.

Sie können die folgenden Schritte ausführen, um RFID-Fehler zu beheben, die aus einem technischen Fehler resultieren.

HINWEIS Bei einem Diagnoselauf ist ein RFID-Lesefehler zulässig. Wenn die RFID von zwei Verbrauchsmaterialien nicht gelesen werden kann, kann die Software nicht mit dem nächsten Schritt zum Einrichten des Laufs fortfahren. Wenden Sie sich bei Auftreten dieses Fehlers bitte an den technischen Support von Illumina.

Fließzelle

1. Versuchen Sie immer, den RFID-Lesevorgang erneut auszuführen, bevor Sie fortfahren. Öffnen Sie dazu die Klappe der Fließzellenkammer und schließen Sie sie wieder.
2. Falls das Lesen der RFID ein zweites Mal fehlschlägt, wählen Sie **Get Code** (Code abrufen). Wenden Sie sich an den technischen Support von Illumina, um einen temporären RFID-Bypass-Code zu erhalten. Ein temporärer Bypass-Code läuft nach sieben Tagen ab.
3. Geben Sie den temporären Bypass-Code mithilfe der Bildschirmtastatur ein.

4. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus.
5. Geben Sie folgende Informationen ein:
 - Die Barcodenummer der Fließzelle, die sich auf dem Etikett des Fließzellenbehälters direkt unterhalb des Barcodes befindet
 - die Artikelnummer der Fließzelle
6. Wählen Sie **Next** (Weiter), um zum Bildschirm „Load Flow Cell“ (Fließzelle laden) zu wechseln.
7. Wählen Sie **Next** (Weiter), um mit dem nächsten Schritt zum Konfigurieren des Laufs fortzufahren.

MiSeqDx SBS Solution (PR2) Flasche

1. Versuchen Sie immer, den RFID-Lesevorgang erneut auszuführen, bevor Sie fortfahren. Heben Sie dazu den Reagenzien-Sipper-Griff an und senken Sie ihn anschließend wieder ab.
2. Falls das Lesen der RFID ein zweites Mal fehlschlägt, wählen Sie **Get Code** (Code abrufen). Wenden Sie sich an den technischen Support von Illumina, um einen temporären RFID-Bypass-Code zu erhalten. Ein temporärer Bypass-Code läuft nach sieben Tagen ab.
3. Geben Sie den temporären Bypass-Code mithilfe der Bildschirmtastatur ein.
4. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus.
5. Geben Sie folgende Informationen ein:
 - Barcodenummer der MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche, die sich auf dem Etikett der MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche direkt unter dem Barcode befindet
 - Teilenummer der MiSeqDx SBS Solution (PR2)-Flasche
6. Wählen Sie **Next** (Weiter), um zum Bildschirm „Load Reagents“ (Reagenzien laden) zu wechseln.
7. Wählen Sie **Next** (Weiter), um mit dem nächsten Schritt zum Konfigurieren des Laufs fortzufahren.

Reagenzienkartusche

1. Versuchen Sie immer, den RFID-Lesevorgang erneut auszuführen, bevor Sie fortfahren. Öffnen Sie dazu die Klappe des Reagenzienkühlers und schließen Sie sie wieder.
2. Falls das Lesen der RFID ein zweites Mal fehlschlägt, wählen Sie **Get Code** (Code abrufen). Wenden Sie sich an den technischen Support von Illumina, um einen temporären RFID-Bypass-Code zu erhalten. Ein temporärer Bypass-Code läuft nach sieben Tagen ab.
3. Geben Sie den temporären Bypass-Code mithilfe der Bildschirmtastatur ein.
4. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus.
5. Geben Sie folgende Informationen ein:
 - Die Barcodenummer des Reagenzien-Kits, die sich auf dem Etikett des Kits direkt unterhalb des Barcodes befindet
 - die Artikelnummer des Reagenzien-Kits
6. Wählen Sie **Next** (Weiter), um zum Bildschirm „Load Reagents“ (Reagenzien laden) zurückzukehren.
7. Wählen Sie **Next** (Weiter), um mit dem nächsten Schritt zum Konfigurieren des Laufs fortzufahren.

Verhindern von Neustarts während eines Laufs

Wenn das MiSeqDx während eines Laufs neu gestartet wird, ist die Windows Update-Software im Netzwerk möglicherweise so konfiguriert, dass Software-Updates automatisch installiert werden. Diese Einstellung hätte während der Installation deaktiviert werden sollen. Wenden Sie sich an die IT-Abteilung vor Ort, wenn Sie Hilfe beim Deaktivieren der automatischen Updates des Windows-Betriebssystems benötigen, das im Hintergrund auf dem MiSeqDx Gerät ausgeführt wird.

Fehlerbehebung bei Fließratenfehlern

Die Fließrate ist die Geschwindigkeit, mit der Flüssigkeiten durch das Fluidiksystem fließen ($\mu\text{l}/\text{min}$). Sie wird vor jedem Lauf während des Selbsttests gemessen. Wenn das System die Fließrate nicht messen kann, ein Reagenzienvolumen (MiSeqDx SBS Solution (PR2)) durch das System pumpen, bevor Sie die Fließrate erneut prüfen.

1. Geben Sie die folgenden Informationen mithilfe der Dropdown-Liste oder der Bildschirmtastatur ein:
 - Lösung: **PR2**
 - Volume (Volumen): **250 μl**
 - Aspirate Rate (Aspirationsrate): **2.500 $\mu\text{l}/\text{min}$**
 - Dispense Rate (Zufuhrtrate): **2.500 $\mu\text{l}/\text{min}$**
2. Wählen Sie **Pump** (Pumpe).
3. Wenn der Pumpschritt abgeschlossen ist, wählen Sie **Restart Check** (Prüfung neu starten).
4. Falls der Fehler weiterhin besteht, ein Pumpvolumen von 500 μl MiSeqDx SBS Solution (PR2) festlegen und den Prozess wiederholen. Wenn beim zweiten Versuch der Fehler nicht behoben wird, bitte an den technischen Support von Illumina wenden.

Durchführen eines Volumentests

Verstopfungen in den Fluidikleitungen können zu einer schlechten Reagenzienzugabe führen und sich negativ auf die Sequenzierungsergebnisse auswirken. Wenn Sie eine Verstopfung in den Fluidikleitungen vermuten, führen Sie einen Volumentest durch.

Bei einem Volumentest wird der Zustand des Fluidiksystems überprüft, indem das Volumen zwischen zwei Blasen geschätzt wird, die die Sensoren passieren. Zur Durchführung eines Volumentests müssen die Waschablage und die Waschflasche mit Wasser in Laborqualität gefüllt und eine gebrauchte Fließzelle muss eingesetzt werden. Befolgen Sie die Anweisungen auf dem Bildschirm, um den Test durchzuführen.

1. Stellen Sie sicher, dass sich eine gebrauchte Fließzelle im Gerät befindet.
2. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Check** (Systemprüfung).
3. Wählen Sie **Conduct Volume Test** (Volumentest durchführen) und anschließend **Next** (Weiter).
4. Füllen Sie jeden Behälter der Waschablage mit 6 ml Wasser in Laborqualität.

5. Füllen Sie die 500-ml-Waschflasche mit 350 ml Wasser in Laborqualität.
6. Laden Sie die Waschablage und die Waschflasche in das Gerät.
 - a. Öffnen Sie die Klappe der Reagenzienkammer und des Reagenzienkühlers und schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.
 - b. Heben Sie den Sipper-Griff an, bis er einrastet, und laden Sie die Waschflasche.
 - c. Entfernen Sie die Abfallflasche und entsorgen Sie den Inhalt ordnungsgemäß. Setzen Sie die Abfallflasche wieder in die Reagenzienkammer ein.
 - d. Drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten und stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
7. Entfernen Sie gemäß den Anweisungen auf dem Bildschirm ggf. vorhandene Tropfen wie folgt vom Waschflaschen-Sipper:
 - a. Wenn Sie dazu aufgefordert werden, heben Sie den Sipper-Griff langsam an und sehen Sie nach, ob sich am Waschflaschen-Sipper ein großer Wassertropfen befindet.
 - b. Wenn Sie dazu aufgefordert werden, senken Sie den Sipper-Griff langsam so weit in das Wasser ab, dass der Tropfen durch die Oberflächenspannung entfernt wird.
 - c. Wenn Sie dazu aufgefordert werden, heben Sie den Sipper-Griff langsam an und sehen Sie nach, ob sich am Waschflaschen-Sipper ein großer Wassertropfen befindet.
 - d. Wenn Sie dazu aufgefordert werden, drücken Sie den Sipper-Griff langsam vollständig nach unten und stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
8. Wählen Sie **Next** (Weiter) aus. Der Volumentest beginnt.

Wenn der Volumentest beendet ist, werden die Ergebnisse auf dem Bildschirm angezeigt.

Wenn der Test nicht bestanden wurde, führen Sie einen Wartungswaschlauf durch. Siehe [Verfahren auf Seite 33](#).
9. Wiederholen Sie nach Abschluss des Wartungswaschlaufs den Volumentest.

Beheben von Temperaturfehlern des Reagenzienkühlers

Der erforderliche Temperaturbereich des Reagenzienkühlers liegt zwischen 2 °C und 11 °C. Eine Sensoranzeige zeigt die Temperatur des Reagenzienkühlers an. Siehe [Sensoranzeigen auf Seite 5](#).

Wenn Sie eine Fehlermeldung erhalten, die besagt, dass sich der Kühler nicht im angegebenen Temperaturbereich befindet, wenden Sie sich an den technischen Support von Illumina.

Wenn die Kühlertemperatur außerhalb des zulässigen Bereichs liegt, kann dies den Start des Sequenzierungslaufs verhindern. Wenn Sie die Fehlermeldung während eines Sequenzierungslaufs erhalten, halten Sie den Lauf nicht an.

Weitere Informationen zum Reagenzienkühler finden Sie unter [Reagenzienkammer auf Seite 3](#).

Beheben von Analysefehler von Local Run Manager

Wenden Sie sich für Informationen zur Fehlerbehebung bei Analysefehlern an den technischen Support von Illumina. In *Local Run Manager Version 4 Software-Referenzhandbuch für MiSeqDx (Dokument-Nr. 200046657)* sind Anweisungen dazu enthalten, wie die Analyse wieder in die Warteschlange gestellt wird.

Konfigurieren der Systemeinstellungen

Das MOS hat zwei Registerkarten mit Befehlen zur Systemkonfiguration.

- IP- und DNS-Einstellungen werden auf der Registerkarte „IP“ konfiguriert. Zum Verwenden dieser Funktion werden Administratorrechte für Windows benötigt.
- Die Netzwerk- und Starteinstellungen werden auf den folgenden Registerkarten konfiguriert:
 - Network Credentials (Netzwerkanmeldedaten): Zum Verwenden dieser Funktion werden Administratorrechte für Windows benötigt.
 - Start-Up Options (Startoptionen): Für diese Funktion werden Administratorrechte für Local Run Manager benötigt.

In der Regel werden diese Systemeinstellungen während der MiSeqDx-Installation konfiguriert.

Konfigurieren von IP- und DNS-Einstellungen

Konfigurieren Sie IP- und DNS-Serveradressen, wenn dies aufgrund einer Netzwerkänderung oder eines Standortwechsels erforderlich ist. Für diese Funktion werden Administratorrechte für Windows benötigt.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Wählen Sie zum Einrichten der IP-Adresse die Registerkarte „IP“ und dann eine der folgenden Optionen:
 - **Obtain an IP address automatically** (IP-Adresse automatisch beziehen): Wählen Sie diese Option, um die IP-Adresse über den DHCP-Server (Dynamic Host Configuration Protocol) zu beziehen.

HINWEIS Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP) ist ein Standard-Netzwerkprotokoll, das auf IP-Netzwerken verwendet wird, um Netzwerkkonfigurationsparameter dynamisch zu verteilen.

- **Use the following IP address** (Folgende IP-Adresse verwenden): Wählen Sie diese Option, um das Gerät manuell mit einem anderen Server zu verbinden. Führen Sie hierzu die folgenden Schritte aus. Fragen Sie Ihren Netzwerkadministrator nach den entsprechenden Adressen Ihres Unternehmens.
 - Geben Sie die IP-Adresse ein. Eine IP-Adresse ist eine Reihe von vier Zahlen, die jeweils durch einen Punkt getrennt sind, z. B. 168.62.20.37.
 - Geben Sie die Subnetzmaske ein, die eine Untergruppe des IP-Netzes ist.
 - Geben Sie das Standard-Gateway ein, bei dem es sich um den Router im Netzwerk handelt, der die Verbindung mit dem Internet herstellt.
- 3. Wählen Sie zum Einrichten der DNS-Adresse eine der folgenden Optionen:
 - **Obtain a DNS server address automatically** (DNS-Server-Adresse automatisch beziehen): Liest die DNS-Adresse, die der IP-Adresse zugeordnet ist.
 - **Use the following DNS server addresses** (Folgende DNS-Server-Adressen verwenden): Verbindet das Gerät mit einem Server, der Domännennamen in IP-Adressen übersetzt.
 - Geben Sie die bevorzugte DNS-Adresse ein. Die DNS-Adresse ist der Name des Servers, der zum Übersetzen von Domännennamen in IP-Adressen verwendet wird.
 - Geben Sie die alternative DNS-Adresse ein. Die alternative Adresse wird verwendet, wenn der bevorzugte DNS-Server einen bestimmten Domännennamen nicht in eine IP-Adresse übersetzen kann.
- 4. Wählen Sie **Save** (Speichern) aus.

Konfigurieren von Netzwerk- und Starteinstellungen

Auf der Registerkarte „Network Credentials“ (Netzwerk-Zugangsdaten) und auf der Registerkarte „Start-Up Options“ (Startoptionen) (Administratorrechte für Local Run Manager erforderlich) die Netzwerk- und Starteinstellungen konfigurieren (für diese Funktion werden Administratorrechte für Windows benötigt).

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Wählen Sie die Registerkarte „Network Credentials“ (Netzwerk-Zugangsdaten) und konfigurieren Sie dann die Netzwerkeinstellungen wie folgt.
3. Der Computername ist der Name, den der Gerätecomputer zum Zeitpunkt seiner Herstellung erhält. In der Regel ist es nicht erforderlich, den Computernamen zu ändern. Wenn Sie den Computernamen in diesem Bildschirm ändern, kann dies die Konnektivität beeinträchtigen. Außerdem werden hierfür der Benutzername und das Kennwort eines Netzwerkadministrators benötigt.
Der Computername wird in der Ausgabe der Local Run Manager-Software als Gerätename angegeben.
4. Verbinden Sie den Gerätecomputer wie im Folgenden beschrieben mit einer Domäne oder Arbeitsgruppe.
 - **Bei Geräten, die mit dem Internet verbunden sind:** Wählen Sie **Domain** (Domäne) und geben Sie den Namen der Domäne ein, die der Internetverbindung Ihrer Einrichtung zugewiesen ist.
 - **Bei Geräten ohne Internetzugang:** Wählen Sie **Workgroup** (Arbeitsgruppe) und geben Sie den Namen einer Arbeitsgruppe ein.
5. Wählen Sie die Registerkarte „Start-Up Options“ (Startoptionen) und dann eine der folgenden Optionen:
 - **Kiosk Mode** (Kiosk-Modus) (empfohlen): Die Benutzeroberfläche der Steuerungssoftware wird als Vollbild angezeigt. Die Software ist für den Einsatz im Kiosk-Modus konfiguriert.
 - **Windows Mode** (Windows-Modus): Ermöglicht den Zugriff auf Windows auf dem Gerätecomputer. Dieser Modus kann eine veränderte Interaktion mit der Benutzeroberfläche der Software, z. B. andere Positionen der Schaltflächen, mit sich bringen.
6. Wählen Sie **Save** (Speichern) aus.

Ausgabeordner

Laufordner

Bei jedem Lauf auf dem MiSeqDx werden drei Laufordner erstellt, von denen jeder einen bestimmten Zweck erfüllt:

- **D:\Illumina\MiSeqTemp:** Wenn der Lauf beginnt, wird ein temporärer Laufordner auf das lokale Laufwerk des Gerätecomputers geschrieben und als Arbeitsbereich für MOS und RTA verwendet. Es muss nicht auf den Ordner „Temp“ (Temporärer) zugegriffen werden. Der Inhalt dieses Ordners wird nach sieben Tagen gelöscht.
- **D:\Illumina\MiSeqOutput:** RTA kopiert Dateien aus dem Ordner „Temp“ (Temporärer) in den Ordner „Output“ (Ausgabe). Wenn Primäranalysedateien generiert werden, kopiert RTA Dateien zurück in den Ordner „Temp“ (Temporärer) und füllt den Ordner „Analysis“ (Analyse). Fokusbilder und Miniaturbilder werden nicht in den Ordner „Analysis“ (Analyse) kopiert.
- **D:\Illumina\MiSeqAnalysis:** Wenn die Primäranalyse abgeschlossen ist, greift Local Run Manager auf den Ordner „Analysis“ (Analyse) auf dem lokalen Laufwerk des Geräts zu, um mit der Sekundäranalyse zu beginnen. Alle Dateien, die in den Ordner „Analysis“ (Analyse) geschrieben werden, werden in den Ordner „Output“ (Ausgabe) kopiert.

Stammordner-Benennung

Der Name des Stammlaufordners gibt das Datum des Laufs, die Gerätenummer und die für den Lauf verwendete Fließzelle an. Die einzelnen Laufordner eines Laufs besitzen denselben Stammordnernamen.

Standardmäßig besitzt der Ordnername das folgende Format:

YYMMDD_<InstrumentNumber>_<Run Number>_A<FlowCellBarcode>

Die Laufnummer wird jedes Mal, wenn ein Lauf auf einem beliebigen Gerät durchgeführt wird, um 1 erhöht.

Technische Unterstützung

Wenn Sie technische Unterstützung benötigen, wenden Sie sich an den technischen Support von Illumina.

Website: www.illumina.com

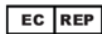
E-Mail-Adresse: techsupport@illumina.com

Sicherheitsdatenblätter (SDB) sind auf der Illumina-Website unter support.illumina.com/sds.html verfügbar.

Die **Produktdokumentation** steht unter support.illumina.com zum Herunterladen zur Verfügung.



Illumina, Inc.
5200 Illumina Way
92122 San Diego, California, USA
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (außerhalb von Nordamerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
The Netherlands

Australischer Sponsor

Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
3000 Melbourne, VIC
Australien

ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK.

© 2026 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

illumina®