illumina®

MiSeqDx-laite

Viiteopas MOS v4:lle

ILLUMINAN OMISTAMAA SISÄLTÖÄ
Asiakirjanro 200010452 v02
Kesäkuu 2026
DIAGNOSTISEEN IN VITRO -KÄYTTÖÖN.

Tämä asiakirja ja sen sisältö ovat Illumina, Inc. -yhtiön ja sen tytäryhtiöiden (”Illumina”) omaisuutta, ja ne on tarkoitettu ainoastaan Illuminan asiakkaiden sopimuskäyttöön tässä kuvattujen tuotteiden käyttöön liittyen eikä mihinkään muuhun tarkoitukseen. Tätä asiakirjaa ja sen sisältöä ei saa käyttää tai jakaa missään muussa tarkoituksessa ja/tai välittää, paljastaa tai jäljentää millään muulla tavoin ilman Illumina-yhtiöltä ennakkoon saatua kirjallista lupaa. Illumina ei tällä asiakirjalla luovuta mitään käyttöoikeuksia sen patentti-, tavaramerkki-, tekijänoikeus- tai tapaoikeuksien nojalla eikä vastaavien kolmansien osapuolten oikeuksien nojalla.

Ohjelmisto on lisensoitu sinulle Illumina Sequencing -ohjelmiston käyttöoikeussopimuksen sääntöjen ja ehtojen mukaisesti erillisellä asiakirjalla. Jos et hyväksy asiakirjan sääntöjä ja ehtoja, Illumina ei myönnä sinulle ohjelmiston käyttöoikeutta, eikä sinun pidä käyttää tai asentaa ohjelmistoa

Tässä kuvattuja tuotteita saa käyttää vain pätevä ja asianmukaisesti koulutettu henkilökunta noudattamalla täsmällisesti tässä asiakirjassa annettuja ohjeita, jotta tuotteiden asianmukainen ja turvallinen käyttö voidaan taata. Asiakirjan sisältö on luettava ja ymmärrettävä kokonaisuudessaan ennen näiden tuotteiden käyttöä.

MIKÄLI TÄSSÄ ANNETTUJA OHJEITA EI LUETA JA TÄSMÄLLISESTI NOUDATETA, SEURAUKSENA VOI OLLA TUOTTEIDEN VAURIOITUMINEN, HENKILÖVAHINKOJA JOKO KÄYTTÄJILLE TAI MUILLE JA MUITA OMAISUUSVAHINKOJA.

ILLUMINA EI HYVÄKSY VASTUUVELVOLLISUUTTA, JOKA JOHTUU TÄSSÄ ASIAKIRJASSA KUVATTUJEN TUOTTEIDEN (MUUN MUASSA TUOTTEIDEN OSIEN TAI OHJELMISTON) EPÄASIANMUKAISESTA KÄYTÖSTÄ TAI TÄLLAISTEN TUOTTEIDEN KÄYTÖSTÄ NIIDEN NIMENOMAISTEN KIRJALLISTEN LISENSSIEN TAI LUPIEN ULKOPUOLELLA, JOTKA ILLUMINA ON MYÖNTÄNYT ASIAKKAAN HANKKIESSA TÄLLAISIA TUOTTEITA.

© 2026 Illumina, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

Kaikki tavaramerkit ovat Illumina, Inc. -yhtiön tai niiden vastaavien omistajien omaisuutta. Tarkemmat tavaramerkkitiedot ovat verkkosivustolla www.illumina.com/company/legal.html.

Tähän ohjelmistoon sisältyy SeqAn-kirjasto, joka on lisensoitu Illuminalle ja jonka jakelu tapahtuu seuraavan lisenssin nojalla:

Copyright © 2010, Knut Reinert, FU Berlin, Kaikki oikeudet pidätetään. Uudelleenjakelu ja käyttö lähde- ja binäärimuodossa joko muokattuna tai muokkaamattomana sallitaan edellyttäen, että seuraavat ehdot täyttyvät:

Lähdekoodin uudelleenjakelun yhteydessä on säilytettävä yllä oleva tekijänoikeusilmoitus, tämä lista ehdoista sekä seuraava vastuuvapautuslauseke.

Binäärimuodon uudelleenjakelun yhteydessä on toimitettava yllä oleva tekijänoikeusilmoitus, tämä lista ehdoista sekä seuraava vastuuvapautuslauseke asiakirjojen ja/tai muun uudelleenjakeluun kuuluvan aineiston joukossa.

FU Berlinin tai Knut Reinertin nimeä tai niiden toimintaan osallistuvien tahojen nimiä ei saa käyttää tästä ohjelmistosta johdettujen tuotteiden hyväksyntään tai myynninedistämiseen ilman erityistä kirjallista ennakolta annettua lupaa.

TEKIJÄNOIKEUDEN HALTIJAT JA OSALLISTUJATAHOT TARJOAVAT TÄMÄN OHJELMISTON "SELLAISENAAN", EIVÄTKÄ HYVÄKSY MITÄÄN VASTUUVELVOLLISUUTTA NIMENOMAISISTA TAI HILJAISISTA TAKUISTA, MUUN MUASSA KAUPPAKELPOISUUTTA JA TIETTYYN KÄYTTÖTARKOITUKSEEN SOPIVUUTTA KOSKEVISTA HILJAISISTA TAKUISTA. TEKIJÄNOIKEUDEN HALTIJA TAI OSALLISTUJATAHOT EIVÄT MISSÄÄN TAPAUKSESSA OLE VASTUUVELVOLLISIA MISTÄÄN SUORISTA, EPÄSUORISTA, SATUNNAISISTA, ERITYISISTÄ, ESIMERKILLISISTÄ TAI SEURANNAISISTA VAHINGOISTA (MUUN MUASSA KORVAAVIEN TUOTTEIDEN TAI PALVELUIDEN HANKINNASTA, KÄYTÖN, TIETOJEN TAI VOITTOJEN MENETYKSESTÄ TAI LIIKETOIMINNAN KESKEYTYMISESTÄ) RIIPPUMATTA SIITÄ, MITEN NE OVAT SYNTYNEET JA VASTUUVELVOLLISUUTTA KOSKEVISTA TEORIOISTA HUOLIMATTA, LIITTYIVÄTPÄ NE SOPIMUKSEEN, PELKKÄÄN VASTUUSEEN TAI RIKKOMUKSEEN (MUKAAN LUKIEN LAIMINLYÖNNIT TAI MUUT SYYT), JOTKA JOHTUVAT JOLLAIN TAVOIN TÄMÄN OHJELMISTON KÄYTÖSTÄ SILLOINKAAN, KUN TÄLLAISTEN VAHINKOJEN MAHDOLLISUUDESTA ON ILMOITETTU.

Versiohistoria

Asiakirjanumero	Päivämäärä	Muutoksen kuvaus
Asiakirjanumero 200010452 v02	Kesäkuu 2026	• Lisätty MiSeq Reporter -viite lisäanalyyseihin osana MiSeqDx-tuettua ohjelmistoa. • Lisätty hyperlinkki MiSeqDx Instrument -tukisivustolle. • Päivitetty säilytyslämpötila. • Poistettu virustorjuntaohjelmiston tiedot. • Päivitetty ohjelmiston rajoituskäytäntöjen linkki Illumina-tuoteturvallisuusportaaliin.
Asiakirjanumero 200010452 v01	Lokakuu 2023	• Päivitetty viittaukset paikallisen ajon asetukseen. • Päivitetty Illumina Proactive -valvontapalvelua koskeva osio sisältämään Send Instrument Health (Lähetä laitteen terveystiedot) -toiminto huoltoa ja vianmääritystä varten. • Päivitetty mallilinjan pesutoimenpide. • Lisätty huomautus sähköpostiasetuksiin, joissa määritetään RFID-lukuvirheparametrit.
Asiakirjanumero 200010452 v00	Marraskuu 2021	Ensimmäinen versio MOS v4.0:n ja Local Run Manager v3.0:n tueksi.

Sisällysluettelo

Versiohistoria iii

Yleiskatsaus 1

Osat 1
MiSeqDx-ohjelmisto 3
Local Run Manager Ohjelmisto 5
Tarvittava levytila 5
Ohjelmistorajoituskäytännöt 6
Sekvensointitila 6

Aloittaminen 8

MiSeqDx-laitteen käynnistäminen 8
Ajon jälkeisen pesuvaihtoehdon määrittäminen 8
Automaattisen käynnistysajovaihtoehdon määrittäminen 9
Illumina Proactive Support -palvelun ottaminen käyttöön 9
Sähköpostiasetusten määrittäminen 10
Oletusarvoisen tuotoskansion sijainnin määrittäminen 11
Tarvittavat tarvikkeet 11
Säilytys ja käsittely 12

Sekvensointi 13

Johdanto 13
Ajon kesto 13
Klusterin luominen 13
Sekvensointi 13
Analyysi 13
Reagenssikasetin valmistelu 14
Sisäänkirjautuminen ja sekvensointikehotteiden noudattaminen 15
Virtauskyvetin puhdistaminen 16
Virtauskyvetin lataaminen 17
Reagenssien lataaminen 19
Ajon valvonta 22
Ajon jälkeisen pesun suorittaminen 24

Huolto 29

Huoltotiheys 29
Ennakoiva huolto 29

Huoltopesun suorittaminen 29
Valmiustilapesun suorittaminen 32
Laitteen virran katkaiseminen 34

Vianmääritys 35
Johdanto 35
Nippulokit vianmääritykseen 35
Järjestelmätarkistuksen suorittaminen 36
Aseta ajo tauolle tai keskeytä se 36
Reagenssikasettien annostelijoiden manuaalinen nostaminen 37
Ajon asetusvirheiden ratkaiseminen 37
RFID-lukuhäiriön ratkaiseminen 38
Uudelleenkäynnistysten ehkäiseminen ajon aikana 40
Vianmäärityksen virtausnopeusvirhe 40
Tilavuustestin suorittaminen 41
Reagenssijäähdyttimen lämpötilavirheiden korjaaminen 42
Local Run Manager-analyysivirheiden korjaaminen 42
Järjestelmäasetusten määrittäminen 42

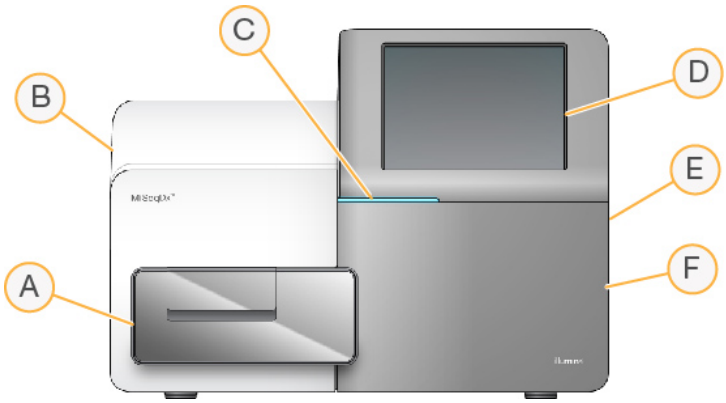
Tuotoskansiot 45
Ajokansiot 45

Tekninen tuki 46

Yleiskatsaus

Osat

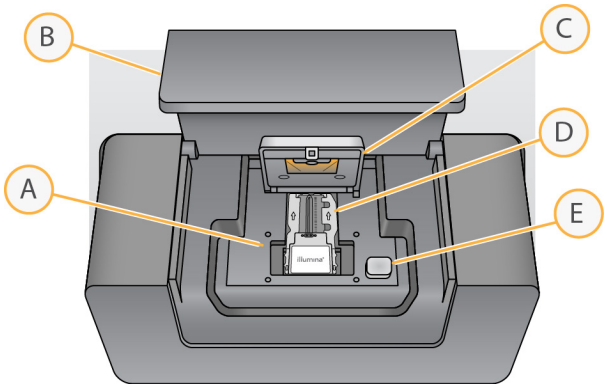
MiSeqDx-laitteessa on seuraavat ulkoiset komponentit:



A. **Virtauskyvettilokero**—sisältää virtauskyvettivaiheen, jonka sisällä virtauskyvetti on ajon aikana. Virtauskyvettivaiheen moottorit siirtävät vaiheen ulos suljetusta optisesta moduulista virtauskyvetin latausta varten ja palaavat vaiheeseen, jossa ajo alkaa.
B. **Suljettu optiikkamoduuli**—sisältää optisia osia, joiden avulla voidaan suorittaa virtauskyvetin kuvantaminen.
C. **Tilapalkki**—ilmaisee virtauskyvetin tilan, kun se on valmis sekvensointiin (vihreä), prosessointiin (sininen) tai tarvitsee huomiota (oranssi).
D. **Kosketusnäyttö**—näyttää ohjausohjelmiston käyttöliittymän järjestelmän määrityksiä ja ajon asetusten määrittämistä varten.
E. **Ulkoinen USB-portti**—helpottaa tiedostojen ja tietojen siirtoa laitteen tietokoneeseen kosketusnäytöstä.
F. **Reagenssilokero**—Sisältää reagenssit asianmukaisissa lämpötiloissa, pesuliuokset ja pullon käytettyjä reagensseja varten. Reagenssilokeron luukku suljetaan magneettisellsa salvalla.

MiSeqDx-käyttöliittymä opastaa ajon asetusvaiheiden läpi käyttäjän kosketusnäyttöä käyttäen. Ajon osien lataaminen edellyttää pääsyä reagenssilokeroon ja virtauskyvettilokeroon.

Virtauskyvettilokero

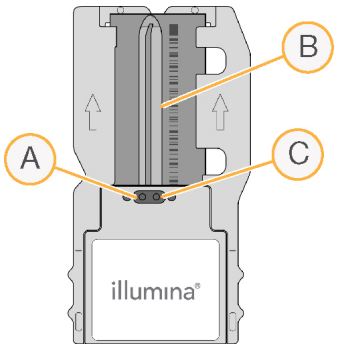


A. Virtauskyvettivaihe
B. Virtauskyvettilokeron luukku
C. Virtauskyvetin salpa
D. Virtauskyvetti
E. Virtauskyvetin salvan vapautuspainike

Virtauskyvettilokero sisältää virtauskyvettivaiheen, lämpöaseman ja virtauskyvetin fluidistorikytkennät. Virtauskyvettivaihe sisältää virtauskyvetin, ja virtauskyvetin salpa kiinnittää virtauskyvetin paikalleen ja asemoi sen. Kun virtauskyvetin salpa sulkeutuu, kaksi salvan saranan lähellä olevaa tappia asemoivat virtauskyvetin automaattisesti.

Lämpöasema, joka sijaitsee virtauskyvettialustan alapuolella, kontrolloi virtauskyvetin lämpötilan muutoksia, joita tarvitaan klustereiden luontiin ja sekvensointiin.

Virtauskyvetti



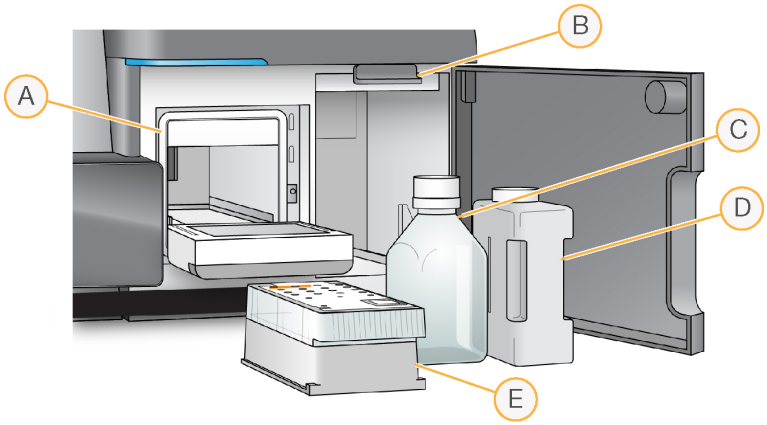
A. Poistoaukon portti
B. Kuvausalue
C. Tuloaukon portti

MiSeqDx-virtauskyvetti on kertakäyttöinen lasipohjainen alusta, jolle klusterit luodaan ja jolla sekvensointireaktio suoritetaan.

Reagenssit siirtyvät virtauskyvettiin tuloaukon portin kautta, kulkevat yksirivisen kuvausalueen kautta ja poistuvat sitten poistoaukon portin virtauskyvetin kautta. Virtauskyvetistä poistuva jäte toimitetaan jätepulloon.

Sekvensointiajon aikana kyvetin yksittäinen rivi kuvataan pienillä kuvausalueilla, joita kutsutaan ruuduiksi.

Reagenssilokero



A. Reagenssijäähdytin
B. Annostelijan kahva (esitetty kohotetussa asennossa)
C. MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullo
D. Jätepullo
E. Reagenssikasetti

Reagenssilokero sisältää reagenssijäähdyttimen sekä paikat MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullolle ja jätepullolle.

Ajon aikana reagenssijäähdyttimessä on yksi kertakäyttöinen reagenssikasetti. Instrumenttiajon aikana pesualustaa pidellään reagenssijäähdyttimessä. Ohjelmisto laskee annostelijat kuhunkin reagenssikasetin säiliöön asianmukaiseen aikaan ajon aikana sen mukaan, mitä prosessia suoritetaan.

Reagenssijäähdyttimen oikealla puolella on kaksi muotoiltua aukkoa, yksi MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullolle ja yksi jätepullolle. Annostelijan kahva lukitsee pullot paikalleen ja laskee asianmukaisen annostelijan kuhunkin pulloon.

Reagenssit pumpataan annostelijoiden ja fluidistorilinjojen läpi ja sen jälkeen virtauskyvettiin. Reagenssijätettä toimitetaan jätepulloon koko prosessin ajan.

MiSeqDx-ohjelmisto

Järjestelmäohjelmistopaketti sisältää integroituja sovelluksia, jotka suorittavat sekvensointiajoja, laiteanalyysin ja niihin liittyviä toimintoja.

- **MiSeq-käyttöohjelmisto (MOS)**—Ohjaa laitteen toimintaa. MiSeq-käyttöohjelmisto (MOS) -käyttöliittymä ohjaa sinut virtauskyvetin ja reagenssien lataamisvaiheiden läpi ennen ajon käynnistämistä. Ajon edistyessä näkyviin tulee laatutilastojen yleiskatsaus. Ohjelmisto asennetaan instrumenttiin ja ajetaan siinä.
- Ajon aikana MOS käyttää virtauskyvettialustaa, annostelee reagenssit, kontrolloi virtauskyvetin lämpötiloja ja kuvaa virtauskyvetin klusterit. MOS suorittaa ajon Local Run Manager -ohjelmistossa määritettyjen parametrien mukaisesti.
- **Real-Time Analysis (RTA) -ohjelmisto**—Suorittaa kuva-analyysin ja emäksen tunnistamisen ja antaa laatupisteytyksen kullekin emäkselle kussakin jaksossa. Kuvat tallennetaan väliaikaisesti ajokansioon RTA-käsittelyä varten ja poistetaan automaattisesti RTA-analyysin valmistuttua.
- **Local Run Manager -ohjelmisto**—Laitteeseen integroitu ratkaisu, jota käytetään ajon luomiseen, tilan valvontaan, sekvensointitietojen analysointiin ja tulosten tarkasteluun. Local Run Manager seuraa myös näytetietoja ja ohjaa käyttöoikeuksia. Ohjelmisto ajetaan laitetietokoneella, ja sitä tarkastellaan verkkoselaimella. Katso kohta *Local Run Manager Ohjelmisto* sivulla 5.
- RUO-ajojen kohdalla **MiSeq Reporter** on saatavilla lisäanalyysien suorittamista varten.

Tilakuvakkeet

Laitteen alustuksen tai käynnistyksen aikana ohjausohjelmiston käyttöliittymässä näkyvä tilakuvake ilmoittaa olosuhteiden muuttumisesta. Kuvakkeessa näkyvä numero osoittaa tilakohtaisten olosuhteiden lukumäärän.

Vilkkuva kuvake ilmoittaa ajon tilan muuttumisesta. Valitsemalla kuvakkeen voit tarkastella kuvausta tilanteesta. Kuittaa viesti valitsemalla **Acknowledge** (Hyväksy) ja sulje valintaikkuna valitsemalla **Close** (Sulje).

Voit suodattaa tilaikkunassa näkyviä viestityyppejä valitsemalla vastaavat kuvakkeet ikkunan yläreunasta. Kun valitaan kuvake, tila joko näytetään tai piilotetaan.

Tilakuvake	Tilan nimi	Kuvaus
	Tila OK	Ei muutosta. Järjestelmän tila on normaali.
	Varoitus	Varoitukset eivät keskeytä ajoa. Jotkin varoitukset kuitenkin edellyttävät toimia ennen jatkamista.
	Virhe	Virheet yleensä keskeyttävät ajon ja yleensä edellyttävät toimia ennen ajon jatkamista.

Anturimerkkivalot

Kolme kunkin liittymän alaosassa olevaa anturimerkkivaloa edustaa instrumenttikomponentin tilaa.

Kuva 1 Anturimerkkivalot

Anturimerkkivalot edustavat seuraavia osia, vasemmalta oikealle:

- Reagenssijäähdyttimen lämpötila celsiusasteina
- Virtauskyvetin lämpötila celsiusasteina

Local Run Manager Ohjelmisto

Local Run Manager -ohjelmisto on laitteeseen integroitu ratkaisu, jolla voi rekisteröidä näytteitä ajoa varten, määrittää ajoparametreja, valvoa tilaa, analysoida sekvensointitietoja ja tarkastella tuloksia.

Lisäksi Local Run Manager ohjaa käyttäjän todennusta ja myöntää käyttäjille eritasoisia käyttöoikeuksia. Käyttöoikeudet tallennetaan tietokantatiedostoon, jota MiSeqDx käyttää viitteenä. Local Run Manager voi myös valvoa sekvensointiajoa. Katso lisätietoja kohdasta *Local Run Manager v4 -ohjelmiston ohje MiSeqDx-järjestelmälle (asiakirjanro 200046657)*.

Sekvensointi analyysin aikana

MiSeqDx-laitteen laskentaresurssit kohdentuvat joko sekvensointiin tai analyysiin.

Jos Local Run Manager-ohjelmistolla MiSeqDx-laitteessa käynnistetään uusi sekvensointiajo ennen kuin aiemman ajon toissijainen analyysi on valmis, näkyviin tulee vahvistusikkuna. Kun olet vahvistanut, että haluat käynnistää uuden sekvensointiajon, Local Run Manager pysäyttää aiemman ajon toissijaisen analyysin siihen saakka, kun uuden ajon sekvensointi valmistuu.

Kun uuden ajon sekvensointi on valmis, aiemman ajon toissijainen analyysi käynnistyy uudelleen alusta automaattisesti.

Tarvittava levytila

Integroidussa instrumenttitietokoneessa on noin 650 Gt:n tallennuskapasiteetti.

Ohjelmisto tarkistaa ennen ajoa käytettävissä olevan levytilan. Jos tilaa on liian vähän, näyttöön tulee vastaava ilmoitus. Siitä ilmenee, kuinka paljon levytilaa ajo vaatii ja kuinka paljon levytilaa on vapautettava.

Mikäli sinua kehotetaan vapauttamaan levytilaa, siirrä tai poista vanhempia ajokansioita tarpeen mukaan.

Ohjelmistorajoituskäytännöt

Windowsin ohjelmistorajoituskäytäntöjen (SRP) sääntöjen avulla sallitaan vain määritetyn ohjelmiston ajo. MiSeqDx-järjestelmän SRP-säännöt perustuvat sertifikaatteihin, tiedostonimiin, tiedostopäätteisiin ja hakemistoihin.

Ohjelmistorajoituskäytännöt on kytketty päälle oletusarvoisesti ei-toivotun ohjelmiston ajon estämiseksi ohjaustietokoneella. Vain sbsadmin-käyttäjä voi poistaa SRP-käytännöt käytöstä.

IT-vastaava tai järjestelmänvalvoja voi mukauttaa tietoturvatason lisäämällä ja poistamalla sääntöjä. Jos järjestelmä lisätään toimialueeseen, paikallinen ryhmäkäytäntöobjekti (GPO) saattaa muokata sääntöjä automaattisesti ja kytkeä ohjelmistorajoituskäytännöt pois päältä.

Lisätietoja SRP:n määrittämisestä on kohdassa Illumina-tuoteturvallisuusportaali.

HUOMIO

Jos SRP-käytännöt poistetaan käytöstä, niiden tarjoama suoja menetetään. Sääntöjen muokkaaminen korvaa oletussuojaukset.

Sekvensointitila

Kun käynnistät laitteen, näkyviin tulee Windowsin **Choose an operating system** (Valitse käyttöjärjestelmä) -näyttö. Tällä näytöllä voit valita käyttöjärjestelmän sekvensointitilan, johon laite käynnistetään. Vaihtoehdot ovat Research (RUO) (Tutkimus) ja Diagnostic (Dx) (Diagnostinen). Jos odotat 10 sekuntia, oletustila valitaan automaattisesti. Voit vaihtaa oletustilaa ja oletusarvoista käynnistystilan valinnan ajastusta milloin tahansa.

- Kun olet valinnut haluamasi tilan, sinun on käynnistettävä järjestelmä uudelleen tilan vaihtamiseksi. Katso kohta *Järjestelmäohjelmiston uudelleenkäynnistys* sivulla 7.
- Kun vaihdat RUO-tilan ja Dx-tilan välillä, sinua kehotetaan suorittamaan ajon jälkeinen pesu. Pesutila ei pysy voimassa tilasta toiseen vaihdettaessa.

Tämän uudelleenkäynnistysominaisuuden käyttöön vaaditaan Windowsin järjestelmänvalvojatason käyttöoikeudet tai tavallisen käyttäjän tapauksessa lupa käynnistää laite uudelleen tutkimustilaan.

HUOMIO

Restore Factory OS (RUO/Dx) (Tehdaskäyttöjärjestelmän (RUO/Dx) palautus) -asetus on tarkoitettu vain Illumina-kenttähuollon käyttöön. Tämä asetus poistaa kaikki tiedot C-asemasta pysyvästi ja palauttaa käyttöjärjestelmän alkuperäiseen tilaan. Tämän asetuksen valitseminen edellyttää, että Illumina-kenttähuoltoinsinööri palauttaa järjestelmän. Palautusprosessia ei voida peruuttaa, kun se on käynnistetty. Valitse tämä asetus ainoastaan, jos Illumina-kenttähuolto suosittelee tekemään niin.

Oletusarvoisen käynnistystilan vaihtaminen:

1. Valitse **Change defaults or choose other options** (Muuta oletuksia tai valitse muita asetuksia).

2. Valitse Options (Asetukset) -näytöllä **Choose a default operating system** (Valitse oletusarvoinen käyttöjärjestelmä).
3. Valitse haluamasi käynnistysvaihtoehto.
4. Palaa **Options** (Asetukset) -näyttöön Takaisin-nuolella.

Oletusarvoisen käynnistystilan ajastuksen vaihtaminen:

1. Valitse **Change defaults or choose other options** (Muuta oletuksia tai valitse muita asetuksia).
2. Valitse Options (Asetukset) -näytöllä **Change the timer** (Muuta ajastusta).
3. Valitse Change the timer (Muuta ajastusta) -näytöllä haluamasi ajastus.
4. Palaa **Options** (Asetukset) -näyttöön Takaisin-nuolella.

VAROITUS

Jos käyttäjä käynnistää järjestelmän uudelleen, kun käytössä on Windows 10, ainoastaan kyseinen käyttäjä voi kirjautua järjestelmään sisään uudelleenkäynnistyksen jälkeen.

Järjestelmäohjelmiston uudelleenkäynnistys

Voit käynnistää järjestelmäohjelmiston uudelleen Reboot (Uudelleenkäynnistys) -komennolla. Ohjelmistoa ei tarvitse käynnistää osana säännöllistä huoltoa.

- Valitse päävalikosta **Reboot** (Käynnistä uudelleen).

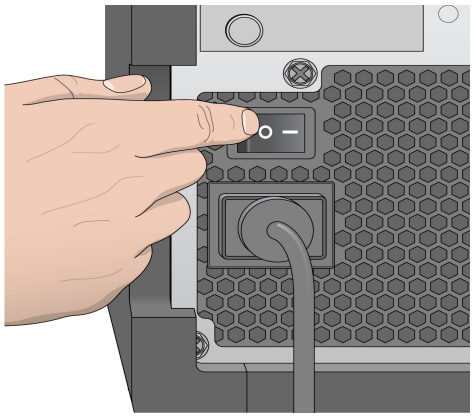
Aloittaminen

MiSeqDx-laitteen käynnistäminen

1. Aseta laitteen takana oleva kaksiasentoinen virtakytkin ON-asentoon.

   HUOM Parhaan suorituskyvyn varmistamiseksi laitteen virta kannattaa pitää kytkettynä jatkuvasti. Jos laite on kuitenkin sammutettava, katso *Laitteen virran katkaiseminen* sivulla 34. Odota *vähintään* 60 sekuntia ennen kuin asetat virtakytkimen takaisin ON-asentoon.

   Kuva 2 Virtakytkimen sijainti

2. Odota järjestelmän latautumista ja valitse sitten käyttöjärjestelmä ja kirjaudu sisään. Kysy tarvittaessa käyttäjätunnusta ja salasanaa laitoksen järjestelmänvalvojalta.
   Lisätietoja käyttöjärjestelmästä ja sekvensointitilavaihtoehdoista on kohdassa *Sekvensointitila* sivulla 6.
   Kun käyttöjärjestelmä on latautunut, MiSeq-käyttöohjelmisto (MOS) käynnistyy ja alustaa järjestelmän automaattisesti. Huomaa, että MiSeq Control Software (MCS) käynnistyy automaattisesti, jos RUO-tila on valittuna.
3. Jos Local Run Manager -ohjelmiston käyttäjien hallinta on käytössä, kirjaudu sisään Local Run Manager -ohjelmiston käyttäjätunnuksella ja salasanalla ja valitse **Next** (Seuraava).

Ajon jälkeisen pesuvaihtoehdon määrittäminen

Instrumenttipesu on suoritettava kunkin ajon jälkeen. Ohjelmisto edellyttää pesun suorittamista ennen myöhemmän ajon määrittämistä. Ajon jälkeisessä pesuvaihtoehdossa määritetään, minkätyyppinen pesu oletusarvoisesti suoritetaan. Ajon jälkeinen pesu kestää noin 30 minuuttia. Huoltopesu kestää noin 90 minuuttia.

1. Valitse päävalikosta **System Settings** (Järjestelmäasetukset).

2. Valitse **Run Settings** (Ajoasetukset) -välilehti.
3. Valitse **Post Run Wash** (Ajon jälkeinen pesu) tai **Maintenance Wash** (Huoltopesu).

Automaattisen käynnistysajovaihtoehdon määrittäminen

MiSeqDx voidaan määrittää käynnistämään sekvensointiajo automaattisesti onnistuneen automaattisen tarkistuksen jälkeen. Local Run Manager Tämän ominaisuuden määrittäminen vaatii järjestelmänvalvojatason käyttöoikeuksia.

1. Valitse päävalikosta **System Settings** (Järjestelmäasetukset).
2. Valitse **Run Settings** (Ajoasetukset) -välilehti.
3. Valitse **Start run after pre-run check. Do not prompt for confirmation** (Käynnistä ajo ajoa edeltävän tarkistuksen jälkeen. Älä anna vahvistuskehotetta) -valintaruutu.
   Mikäli tämä asetus poistetaan käytöstä, käynnistä ajo manuaalisesti ajoa edeltävän tarkistuksen jälkeen.

Illumina Proactive Support -palvelun ottaminen käyttöön

1. Valitse päävalikosta **System Settings** (Järjestelmäasetukset).
2. Valitse Proactive (Proaktiivinen) -välilehti.

- Ota Illumina Proactive -valvontapalvelu käyttöön valitsemalla **Send Instrument Health** (Lähetä laitteen terveystiedot). Asetuksen nimi ohjelmiston käyttöliittymässä saattaa poiketa tässä oppaassa esitetystä nimestä käytössä olevan MOS -version mukaan.
  Kun tämä asetus on käytössä, laitteen suoritustiedot lähetetään Illumina:lle. Tiedot auttavat Illumina vianmäärityksessä ja helpottavat mahdollisten vikojen havaitsemista, jolloin ennakoiva huolto voidaan ottaa käyttöön ja laitteen käytettävyysaika maksimoidaan. Lisätietoja tämän palvelun hyödyistä annetaan *Illumina Proactiven teknisessä huomautuksessa (julkaisunro 1000000052503)*.
  Tämä palvelu:
  - Ei lähetä sekvensointitietoja.
  - Edellyttää, että laite on liitetty internetiin yhdistettyyn verkkoon.
  - Palvelu on oletusarvoisesti poissa käytöstä. Aloita palvelun käyttö ottamalla käyttöön **Send Instrument Health** (Lähetä laitteen terveystiedot) -asetus.
- Ota Illumina Proactive -valvontapalvelu käyttöön valitsemalla **Send instrument health information to Illumina to aid technical support** (Lähetä laitteen terveystiedot Illumina-yhtiöön teknisen tuen avuksi). Asetuksen nimi ohjelmiston käyttöliittymässä saattaa poiketa tässä oppaassa esitetystä nimestä käytössä olevan MOS -version mukaan.

Kun tämä asetus on käytössä, laitteen suoritustiedot lähetetään Illumina:lle. Tiedot auttavat Illumina vianmäärityksessä ja helpottavat mahdollisten vikojen havaitsemista, jolloin ennakoiva huolto voidaan ottaa käyttöön ja laitteen käytettävyysaika maksimoidaan. Lisätietoja tämän palvelun hyödyistä annetaan *Illumina Proactiven teknisessä huomautuksessa (julkaisunro 1000000052503)*. Tämä palvelu:

- Ei lähetä sekvensointitietoja.
- Edellyttää, että laite on liitetty internetiin yhdistettyyn verkkoon.
- Palvelu on oletusarvoisesti poissa käytöstä. Voit aloittaa palvelun käytön ottamalla käyttöön **Send instrument health information to Illumina to aid technical support** (Lähetä laitteen terveystiedot Illuminalle teknisen tuen avuksi) -asetuksen.

3. Valitse avattavasta luettelosta isännöintialue, johon laitteen tulee muodostaa yhteys.

Sähköpostiasetusten määrittäminen

MiSeqDx voidaan määrittää lähettämään sähköposti-ilmoitus, kun RTA-analyysi on valmis, kun laitteessa tapahtuva toissijainen analyysi on valmis tai jos ilmenee kriittinen MiSeqDx-ohjelmistovirhe. Tämä määritys tehdään tavallisesti MiSeqDx-laitteen asennuksen aikana. Local Run Manager Tämän ominaisuuden käyttö edellyttää järjestelmänvalvojatason käyttöoikeuksia.

1. Valitse päävalikosta **System Settings** (Järjestelmäasetukset).
2. Valitse **Email Notifications** (Sähköposti-ilmoitukset) -välilehti.
3. Syötä seuraavat tiedot:
   - **Local SMTP email server address** (Paikallisen SMTP-sähköpostipalvelimen osoite) – Syötä paikallisen SMTP-sähköpostipalvelimen osoite näyttönäppäimistön avulla. Ota tarvittaessa näiden tietojen hankintaa varten yhteyttä laitoksen järjestelmänvalvojaan.
   - **Sender email address** (Lähettäjän sähköpostiosoite) — Syötä lähettäjän sähköpostiosoite näyttönäppäimistön avulla. Tämä osoite voi olla sähköpostiosoitteesi tai muu osoite, joka on määritetty sähköposti-ilmoitusten lähettämistä varten. Lähettäjän sähköpostiosoitteen toimialuenimen on oltava sama kuin sähköpostipalvelimen osoitteessa.
   - **Recipient addresses** (Vastaanottajien osoitteet) — Voit syöttää näyttönäppäimistöllä kunkin vastaanottajan sähköpostiosoitteen ilmoitusten vastaanottoa varten. Erota sähköpostiosoitteet toisistaan pilkuilla. Valitsemalla **Test** (Testi) voit lähettää testisähköposti-ilmoituksen vastaanottajille.
   - **Notify via email when** (Ilmoita sähköpostitse, kun) — Valitse valintaruutu kunkin ilmoituksen laukaisevan ajotapahtuman kohdalla.

HUOM Diagnostiikka-ajossa sallitaan yksi RFID-lukuvirhe. Jos kahden tarvikkeen RFID-tunnistetta ei voida lukea, ohjelmisto ei voi jatkaa seuraavaan ajon asetusvaiheeseen. Jos tämä virhe tapahtuu, ota yhteyttä Illumina-yhtiön tekniseen tukeen. Jos valitset **Notify via email when** (Ilmoita sähköpostitse, kun) -vaihtoehdon ja **On-Instrument analysis is complete** (Laitteen analyysi on valmis) -valintaruudun, sähköposti-ilmoitukset lähetetään vain, jos ajoa ei ole määritetty lähettämään sekvensointitietoja BaseSpace Sequence Hub -ohjelmistoon.

Oletusarvoisen tuotoskansion sijainnin määrittäminen

MiSeqDx-laitteen Output Folder (Tuotoskansio) -asetus määrittää analyysin tuotostiedostojen oletusarvoisen sijainnin. Kansiot voivat sijaita paikallisessa verkostossa tai instrumenttitietokoneella. Muuta oletusarvoinen Output (Tuotos) -kansio verkkosijainniksi jakamista tai pitkäaikaista arkistointia varten.

Local Run ManagerTämän ominaisuuden määrittäminen edellyttää järjestelmänvalvojatason käyttöoikeuksia.

1. Valitse päävalikosta **System Settings** (Järjestelmäasetukset).
2. Valitse Run Settings (Ajoasetukset) -välilehti.
3. Syötä Output Folder (Tuotoskansio) -kenttään polku kansion sijaintiin.
   Varmista, että syötät UNC-polun kokonaisuudessaan, kuten `\\YourServer\Path\OutputFolder`.

VAROITUS

Jos käytät kartoitettua asemaa, kuten `Z:\OutputFolder`, sekvensointiajon analyysiä ei suoriteta loppuun.

Tarvittavat tarvikkeet

Sekvensointitarvikkeet

Sekvensointitarvikkeet, jotka ovat välttämättömiä MiSeqDx-ajoa varten, toimitetaan erikseen osana *in vitro* -diagnostiikkasarjaa.

Käyttäjän hankittaviksi jäävät tarvikkeet

Varmista ennen ajon alkua, että seuraavat käyttäjän hankkimat tarvikkeet ovat käytettävissä.

Tarvike	Tarkoitus
Alkoholiliinat, 70-prosenttinen isopropanoli tai etanoli, 70-prosenttinen	Virtauskyvetin lasin tason puhdistaminen
Laboratorioliina, vähän nukkaava	Virtauskyvetin tason puhdistaminen
Linssipaperi, 4 x 6 tuumaa	Virtauskyvetin puhdistaminen
MiSeq-putket	Mallilinjan pesu (valinnainen)
NaOCl, 5 %	Mallilinjan pesu (valinnainen)
Tween 20	Laitteen pesu
Pinsetit, neliökärki, muovia (valinnainen)	Virtauskyvetin poistaminen toimituspakkauksesta
Vesi, laboratoriokäyttöön tarkoitettu	Laitteen pesu

Laboratoriokäyttöön tarkoitettua vettä koskevat ohjeet

Käytä laitteen toimenpiteissä aina laboratoriokäyttöön tarkoitettua vettä. Älä koskaan käytä vesijohtovettä.

Käytä vain seuraavan laatuista vettä tai vastaavia:

- deionisoitu vesi
- Illumina PW1 -vesi
- 18 megaohmin (MΩ) vesi
- Milli-Q-vesi
- Super-Q-vesi
- molekyylibiologisen laadun vesi

Säilytys ja käsittely

Elementti	Tekniset tiedot
Lämpötila	Kuljetus: -10–40 °C (14–104 °F) Säilytys: 15–30 °C (59–86 °F). Käyttöolosuhteet: 19–25 °C (66–77 °F)
Kosteus	Kuljetus ja varastointi: Tiivistymätön kosteus Käyttöolosuhteet: 30–75 %:n suhteellinen kosteus (tiivistymätön)

Sekvensointi

Johdanto

Voit suorittaa MiSeqDx-ajon suorittamalla tässä luvussa kuvatut asetusvaiheet. Kun ajo on käynnistynyt, muita käyttäjän toimia ei tarvita.

Kun sekvensointiajo on suoritettu loppuun, suorita instrumentin pesu.

Ajon kesto

Ajon kesto perustuu suoritettujen jaksojen määrään. MiSeqDx-reagenssien version mukaan MiSeqDx voi suorittaa paired-end-sekvensointiajon, jossa on enintään 2 x 301 sekvensointijaksoa.

Jaksojen määrä readissa

Readissa suoritettujen jaksojen määrä on yksi enemmän kuin analysoitujen jaksojen määrä. Yksi ylimääräinen jakso vaaditaan phasing- ja prephasing-laskutoimituksia varten.

Esimerkiksi 150 jakson ajossa paired-end-ajo suorittaa kaksi 151 jakson readia (2 × 151) eli yhteensä 302 jaksoa sekä mahdolliset indeksiread-jaksot. Ajon lopussa 2 x 150 jaksoa analysoidaan.

Klusterin luominen

Klusterin luomisen aikana yksittäiset DNA-molekyylit ovat sitoutuneina virtauskyvetin pintaan ja niitä monistetaan siltamaisesti klusterien muodostamista varten.

Sekvensointi

Klusterien luonnin jälkeen klusterit kuvataan käyttäen kullekin fluoresoivasti merkitylle dideoksinukleotidille ominaista LED- ja suodatinyhdistelmää. Kun virtauskyvetin yhden ruudun kuvaaminen on suoritettu, virtauskyvetti siirretään paikalleen seuraavan ruudun valottamista varten. Prosessi toistetaan, kunnes kaikki ruudut on kuvattu. Kuva-analyysin jälkeen ohjelmisto suorittaa ensisijaisen analyysin, johon sisältyy emästen tunnistaminen, suodatus ja laatupisteytys.

Analyysi

Kun ajo on valmis, Local Run Manager -analyysiohjelmisto käynnistyy automaattisesti toissijaisen analyysin suorittamiseksi.

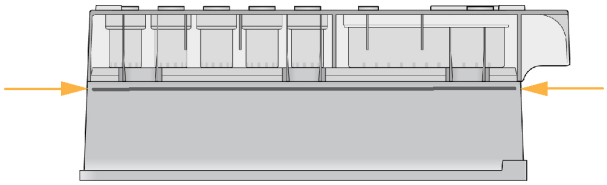
Toissijaista analyysia voidaan valvoa internetyhteyden välityksellä toisesta tietokoneesta sillä edellytyksellä, että tietokone on yhdistetty samaan verkkoliitäntään MiSeqDx-laitteen kanssa. Katso *Local Run Manager v4 -ohjelmiston ohje MiSeqDx-järjestelmälle (asiakirjanro 200046657)*.

Reagenssikasetin valmistelu

Seuraavissa ohjeissa kuvataan, miten reagenssikasetti sulatetaan huoneenlämpöisessä vesihauteessa.

1. Sulata reagenssikasetti vesihauteessa, jossa on riittävästi huoneenlämpöistä deionisoitua vettä, jotta reagenssikasetin pohja uppoaa veteen reagenssikasettiin painettuun vesirajaan saakka. Älä anna veden ylittää enimmäisvesirajaa.
2. Ota reagenssikasetti –25…–15 °C:n säilytyslämpötilasta.
3. Aseta reagenssikasetti vesihauteeseen, jossa on riittävästi huoneenlämpöistä deionisoitua vettä, jotta reagenssikasetin pohja uppoaa veteen. Älä anna veden ylittää reagenssikasettiin painettua enimmäisvesirajaa.

   Kuva 3 Enimmäisvesiraja



4. Anna reagenssikasetin sulaa kokonaan huoneenlämpötilaisessa vesihauteessa.
   Sulatusajat vaihtelevat noin 60 minuutista 90 minuuttiin reagenssikasetin tyypin mukaan. Tarkista lisätiedot analyysin pakkausselosteesta.
5. Poista kasetti vesihauteesta ja naputa sitä kevyesti työtasolla veden poistamiseksi kasetin pohjasta. Kuivaa kasetin pohja. Varmista, että vettä ei ole roiskunut reagenssikasetin yläosaan.

Reagenssikasetin tarkistaminen

1. Käänteleä reagenssikasettia kymmenen kertaa sulaneiden reagenssien sekoittamiseksi ja tarkista sitten, että kaikki asemat ovat sulaneet.
2. Tarkista reagenssit asemissa 1, 2 ja 4 varmistaaksesi, että ne ovat kokonaan sekoittuneet ja että niissä ei ole sakkaa.

   HUOM On ratkaisevan tärkeää, että kasetin reagenssit ovat täysin sulaneet ja sekoittuneet, jotta voidaan varmistaa asianmukainen sekvensointi.

3. Napauta alustaa varovasti työtason päällä reagenssien ilmakuplien vähentämiseksi.

   HUOM MiSeqDx-annostelijaputket siirtyvät kunkin säiliön pohjaan reagenssien aspirointia varten, joten on tärkeää, että säiliöissä ei ole ilmakuplia.

4. Aseta reagenssikasetti jäälle tai siirrä se syrjään 2–8 °C:n lämpötilaan (enintään kuudeksi tunniksi), kunnes olet valmis määrittämään ajon. Parhaan tulokset saat siirtymällä suoraan näytteen lataamiseen ja ajon määrittämiseen.

Näytekirjastojen lataaminen kasettiin

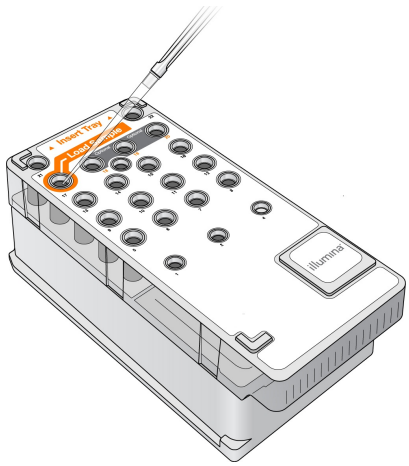
Kun reagenssikasetti on täysin sulanut ja käyttövalmis, olet valmis lataamaan näytteet kasettiin.

1. Käytä erillistä, puhdasta ja tyhjää 1 ml:n pipettikärkeä kalvosulun puhkaisemiseen **Load Samples** (Latausnäytteet) -merkinnällä varustetun reagenssikasetin säiliön kohdalla.

   HUOM Älä puhkaise muita reagenssiasemia. Muut reagenssiasemat puhkaistaan automaattisesti ajon aikana.

2. Pipetoi 600 µl DAL-näytekirjastoja **Load Samples** (Latausnäytteet) -säiliöön. Vältä koskemasta kalvosulkuun.
3. Tarkista, onko säiliössä ilmakuplia näytteen latauksen jälkeen. Mikäli mukana on kuplia, vapauta ne taputtamalla kasettia varoen työtasoon.

   Kuva 4 Kirjastojen lataaminen



4. Jatka suoraan ajon asetusvaiheisiin MiSeq-käyttöohjelmisto (MOS) -käyttöliittymän avulla.

Sisäänkirjautuminen ja sekvensointikehotteiden noudattaminen

1. Valitse aloitusnäytöstä **Sequence** (Sekvenssi).
2. Jos loki avautuu näytöllä, syötä asianmukaiset käyttäjätunnukset ja valitse sen jälkeen **Next** (Seuraava). Valitse sisäänkirjaumisen jälkeen uudelleen **Sequence** (Sekvenssi).
3. Valitse ajo luettelosta.
4. **[Valinnainen]** Valitsemalla **Preview Samples** (Näytteiden esikatselu) näet luettelon ajon näytteistä.
5. Valitse **Next** (Seuraava).
6. Voit ladata virtauskyvetin ja reagenssin sekä määrittää ajon (kuvattu seuraavissa osioissa) noudattamalla kehotteita.

Virtauskyvetin puhdistaminen

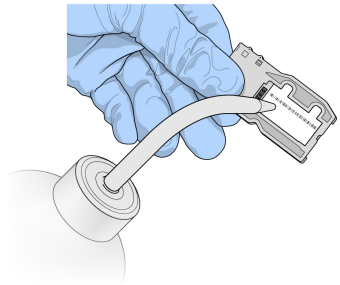
Virtauskyvetti upotetaan säilytyspuskuriin virtauskyvettisäiliössä.

1. Pue uudet puuterittomat suojakäsineet.
2. Tartu virtauskyvettiin muovipihdeillä muovikasetin pohjasta ja poista se virtauskyvetin säiliöstä.

   Kuva 5 Virtauskyvetin poistaminen

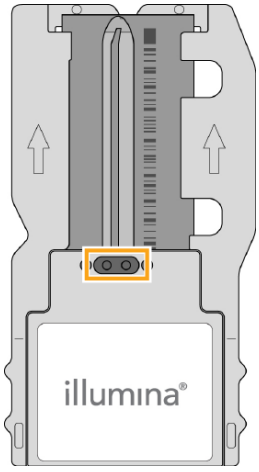
3. Huuhtele virtauskyvetti kevyesti laboratoriokäyttöön sopivalla vedellä varmistaen, että ylimääräinen suola on huuhdeltu perusteellisesti lasista ja muovikasetista.
   Ylimääräinen suola saattaa vaikuttaa virtauskyvetin istuvuuteen instrumentissa. Mikäli suola kuivuu kuvantamisalueelle, se saattaa vaikuttaa myös kuvantamiseen.

   Kuva 6 Virtauskyvetin huuhteleminen

4. Kuivaa virtauskyvetti ja kasetti huolellisesti nukkaamattomalla linssinpuhdistusliinalla ja ole varovainen mustan virtauskyvetin portin tiivisteen kohdalla (rajattu seuraavassa kuvassa). Taputtele tiivisteen alue ja sen vieressä oleva lasi varoen kuivaksi.

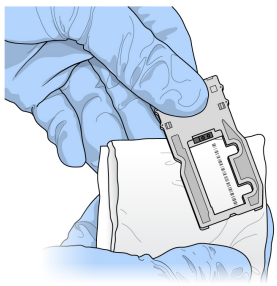
Kuva 7 Virtauskyvetin portit ja tiiviste



5. Puhdista virtauskyvetin lasi alkoholipyyhkeellä. Varmista, että lasissa ei ole juovia tai sormenjälkiä eikä nukkaa tai tekstiilikuituja.

   HUOM Älä käytä alkoholipyyhettä virtauskyvetin portin tiivisteen pyyhkimiseen.

   Kuva 8 Virtauskyvetin kuivaus

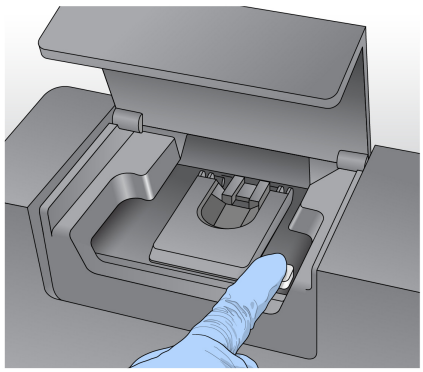


6. Kuivaa ylimääräinen alkoholi nukkaamattomalla linssinpuhdistusliinalla.
7. Varmista, että virtauskyvetin porteissa ei ole tukoksia ja että tiiviste on kunnolla paikallaan virtauskyvetin porttien ympärillä.
   Jos vaikuttaa siltä, että tiiviste on pois paikaltaan, paina sitä varoen takaisin paikalleen, kunnes se on tukevasti virtauskyvetin porttien ympärillä.

Virtauskyvetin lataaminen

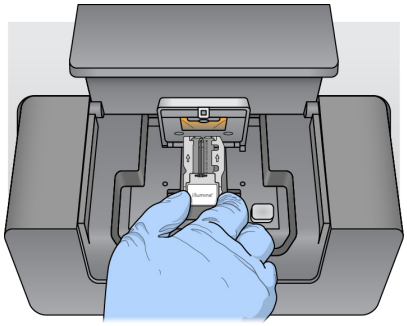
1. Nosta virtauskyvettilokeron luukkua ja paina sitten vapautuspainiketta virtauskyvettisalvan oikealla puolella. Virtauskyvetin salpa avautuu.

Kuva 9 Virtauskyvetin salvan avaaminen



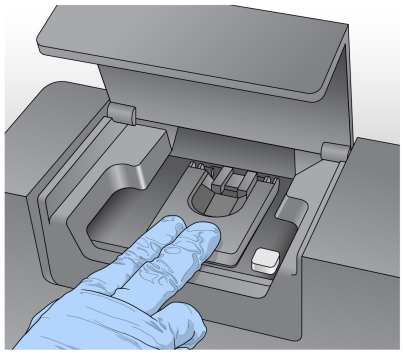
2. Varmista, että virtauskyvettiin ei jää nukkaa. Mikäli esiintyy nukkaa tai muuta jätettä, puhdista virtauskyvetti alkoholiin kastetulla liinalla tai nukkaamattomalla liinalla, joka on kostutettu etanolilla tai isopropanolilla. Pyyhi virtauskyvettivaiheen pintaa huolellisesti, kunnes se on puhdas ja kuiva.
3. Aseta virtauskyvetti virtauskyvettivaiheeseen pitelemällä sitä virtauskyvettikasetin reunoilta.

Kuva 10 Virtauskyvetin asettaminen vaiheeseen



4. Sulje virtauskyvetin salpa virtauskyvetin kohdalla painamalla sitä kevyesti.
Kun virtauskyvetin salpa suljetaan, virtauskyvetti asemoidaan kohdalleen kohdistustappien avulla. Kuuluva loksahdus ilmoittaa, että virtauskyvetin salpa on oikein paikoillaan.

Kuva 11 Virtauskyvetin salvan sulkeminen



5. Jos ohjelmisto ei tunnista virtauskyvetin RFID:tä, katso *RFID-lukuhäiriön ratkaiseminen* sivulla 38.

HUOM Mikäli RFID:tä ei voida lukea, tunnistetiedot voidaan syöttää manuaalisesti. Ohjelmisto sallii kuitenkin vain yhden kolmesta RFID-merkitystä komponentista (virtauskyvetti, reagenssikasetti, MiSeqDx SBS -liuos (PR2)) tunnisteen lukemisen epäonnistua in vitro -diagnostiikka-ajon aikana. Katso lisätietoja kohdasta *RFID-lukuhäiriön ratkaiseminen* sivulla 38.

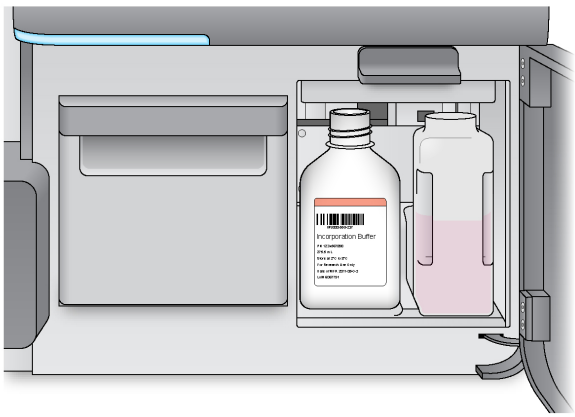
6. Sulje virtauskyvettilokeron luukku.
7. Valitse **Next** (Seuraava).

Reagenssien lataaminen

MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullon lataaminen ja jätepullon tarkistaminen

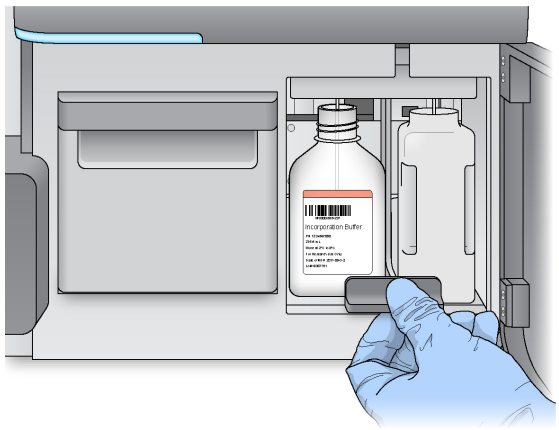
1. Ota MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullo 2–8 °C:n säilytystilasta. Sekoita kääntelemällä ja poista sitten kansi.
2. Avaa reagenssilokeron luukku.
3. Nosta annostelijan kahvaa, kunnes se lukittuu paikalleen.
4. Poista pesupullo ja lataa MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullo.

Kuva 12 MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullon lataaminen.



5. Tyhjennä jätepullon sisältö asianmukaiseen säiliöön.
6. Laske annostelijan kahvaa hitaasti. Varmista, että annostelijat laskeutuvat MiSeqDx SBS -liuos (PR2)- ja jätepulloon.

Kuva 13 Annostelijan kahvan laskeminen



7. Jos ohjelmisto ei tunnista MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullon RFID:tä, katso *RFID-lukuhäiriön ratkaiseminen* sivulla 38

   HUOM Mikäli RFID:tä ei voida lukea, tunnistetiedot voidaan syöttää manuaalisesti. Ohjelmisto sallii kuitenkin vain yhden kolmesta RFID-merkitystä komponentista (virtauskyvetti, reagenssikasetti, MiSeqDx SBS -liuos (PR2)) tunnisteen lukemisen epäonnistua in vitro -diagnostiikka-ajon aikana. Katso lisätietoja kohdasta *RFID-lukuhäiriön ratkaiseminen* sivulla 38.

8. Valitse **Next** (Seuraava).

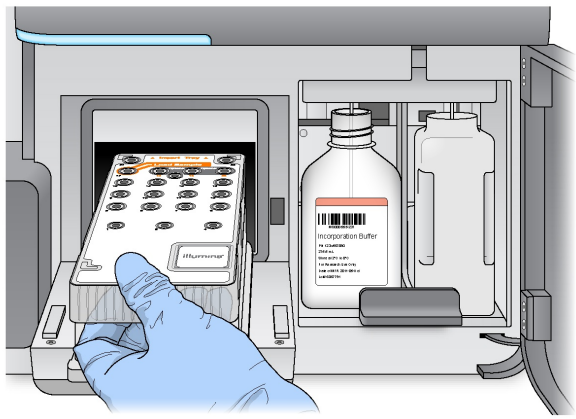
Reagenssikasetin lataaminen

1. Avaa reagenssijäähdyttimen luukku.

   HUOM Älä jätä reagenssijäähdyttimen luukkua auki pitkäksi aikaa.

2. Pitele reagenssikasettia Illumina-etiketillä varustetusta päästä ja liu'uta reagenssikasettia reagenssijäähdyttimeen, kunnes kasetti pysähtyy.

Kuva 14 Reagenssikasetin lataaminen



3. Sulje reagenssijäähdyttimen luukku.
4. Jos ohjelmisto ei tunnista reagenssikasetin RFID:tä, katso *RFID-lukuhäiriön ratkaiseminen* sivulla 38.

HUOM Mikäli RFID:tä ei voida lukea, tunnistetiedot voidaan syöttää manuaalisesti. Ohjelmisto sallii kuitenkin vain yhden kolmesta RFID-merkitystä komponentista (virtauskyvetti, reagenssikasetti, MiSeqDx SBS -liuos (PR2)) tunnisteen lukemisen epäonnistua in vitro -diagnostiikka-ajon aikana. Katso lisätietoja kohdasta *RFID-lukuhäiriön ratkaiseminen* sivulla 38.

5. Voit käynnistää ajon tekemällä valinnan seuraavien vaihtoehtojen joukosta.
   - Ellei järjestelmää ole määritetty käynnistymään automaattisesti onnistuneen tarkistuksen jälkeen, valitse **Start** (Käynnistä) **Run** (Ajo).
   - Mikäli järjestelmä on määritetty käynnistymään automaattisesti onnistuneen tarkistuksen jälkeen, sekvensointiajo käynnistyy automaattisesti. Läsnäoloasi ei tarvita. Mikäli tarkistuksen aikana kuitenkin ilmenee virheitä, ajo ei käynnisty automaattisesti.

HUOM Mikäli reagenssijäähdyttimen lämpötila on alueen ulkopuolella, se saattaa estää sekvensointiajon käynnistymisen. Katso kohta *Reagenssijäähdyttimen lämpötilavirheiden korjaaminen* sivulla 42.

Tärkeä huomautus ennen ajon käynnistämistä

⚠ VAROITUS

MiSeqDx on herkkä tärinälle. Laitteen koskettaminen ajon käynnistymisen jälkeen saattaa vaikuttaa haitallisesti sekvensointituloksiin.

Älä avaa virtauskyvettilokeron tai reagenssilokeron luukkuja reagenssikasetin latauksen ja reagenssilokeron luukun sulkemisen jälkeen. Älä kosketa laitteen näyttöä muuten kuin ajon asettamiseksi tauolle. Katso lisätietoja kohdasta *Ajon asettaminen tauolle* sivulla 36.

VAROITUS

Varmista, että suljet kaikki tiedostot MiSeqDx-laitteessa ennen ajon aloittamista, äläkä avaa tiedostoja ajon aikana.

Ajon valvonta

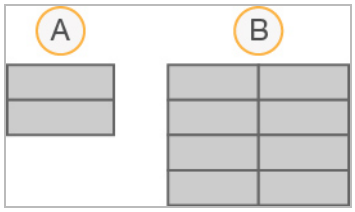
Voit valvoa ajon tietoja ajon aikana laitteen Sequencing (Sekvensointi) -näytön avulla. Sequencing (Sekvensointi) -näytön tiedot ovat vain tarkasteltavissa.

Voit myös käyttää Local Run Manager -ohjelmistoa ajon valvontaan etänä, jos laite on yhdistetty samaan verkkoon.

Local Run Manager näyttää ajon edistymisen ja sekvensointitiedot (Total Clusters (Klusterien kokonaismäärä), % Clusters PF (suodattimen läpäisevät klusterit %), Read 1 ja Read 2, %>= Q30, ja Last Scored Cycle (Viimeisin laatupisteytetty jakso)). Katso lisätietoja kohdasta *Local Run Manager Ohjelmisto* sivulla 5.

1. Voit valvoa ajon edistymistä, intensiivisyyksiä ja laatupisteitä laitteen Sequencing (Sekvensointi) -näytöllä.
   - **Run Progress** (Ajon edistyminen) — Näyttää ajon edistymisen tilapalkissa ja ilmoittaa valmistuneiden jaksojen määrän.
   - **Intensity** (Intensiivisyys) — Näyttää klustereiden intensiivisyysarvon kunkin ruudun 90. prosentin kohdalla.

   Intensity (Intensiivisyys) -alueen kaaviossa esitetään kuvattavien ruutujen määrä.
   - Jos virtauskyvetti kuvataan vain yläpinnalta, näkyviin tulee yhden sarakkeen grafiikka.
   - Jos virtauskyvetti kuvataan yläpinnalta ja alapinnalta, näkyviin tulee kahden sarakkeen grafiikka.



   A. Osoittaa kahta ruutua, vain yläpinta
   B. Osoittaa neljä ruutua, yläpinta ja alapinta

   - **Q-Score All Cycles** (Q-pisteytä kaikki jaksot) — Näyttää pistemäärältään yli Q30:n emästen keskimääräisen prosenttiosuuden. Kyseessä on laatupistemäärämitta (Q-pisteet). Q-pisteillä ennustetaan virheellisen emäksen tunnistamisen todennäköisyyttä. Q-pisteet lasketaan jakson 25 jälkeen.

Q-pistemäärä	Virheellisen emäksen tunnistamisen todennäköisyys
Q40	1/10 000
Q30	1/1000
Q20	1/100
Q10	1/10

- **Cluster Density (K/mm²)** (Klusterien tiheys (K/mm²)) — Näyttää ajon klusterien määrän neliömillimetriä kohti. Optimaalisesti voidaan odottaa 800 000/mm²:n klusteritiheyttä.

HUOM Emäksen tunnistamisen puhtaus on sen suurimman signaalin intensiivisyyden suhde, joka on jaettu kahden suurimman signaalin summalla. Mikäli useamman kuin yhden emäksen tunnistamisen puhtausarvo on alle 0,6 ensimmäisten 25 jakson aikana, readit eivät läpäise laatusuodatinta.

- **Estimated Yield (Gb)** (Arvioitu tuotto (Gb) — Näyttää megaemäksinä arvioidun emäsmäärän, jota kyseisessä ajossa tarvitaan. Nämä tiedot näkyvät vasta jakson 25 jälkeen.

2. Kun ajo on suoritettu loppuun, näkyviin tulee Next (Seuraava) -painike. Tarkista tulokset Sequencing (Sekvensointi) -näytöltä ennen jatkamista.

HUOM Sequencing (Sekvensointi) -näyttö jää näkyviin, kunnes valitaan Next (Seuraava). Kun olet valinnut Next (Seuraava), ei ole enää mahdollista palata Sequencing (Sekvensointi) -näytölle.

3. Valitsemalla **Next** (Seuraava) voit poistua Sequencing (Sekvensointi) -näytöltä ja siirtyä ajon jälkeiseen pesuun.

Mallin luonti

Real-Time Analysis (RTA) -ohjelmisto käyttää sekvensointiajon ensimmäiset neljä jaksoa mallin luontiin. Mallin luonti on prosessi, jossa koko virtauskyvetin pinnan klusteriasemat määritetään X- ja Y-koordinaattiaseman mukaan.

Kun klusteriasemien malli on luotu, kaikkien myöhempien kuvausjaksojen aikana tuotetut kuvat kohdistetaan mallin kanssa. Kaikkien neljän nukleotidivärikanavan yksittäiset klusterivoimakkuudet poimitaan ja normalisoiduista klusterivoimakkuuksista luodaan emästen tunnistukset.

Ajon mittaustiedot

Ajon mittaustiedot tulevat näkyviin Sequencing (Sekvensointi) -näytöllä ajon eri vaiheissa. Klusterien luontivaiheessa ei tule näkyviin mittaustietoja.

Kun sekvensointi on alkanut, seuraavat mittaustiedot tulevat näkyviin ilmoitettujen jaksojen yhteydessä:

Jakso	Mittari
Jakso 1–4	Intensiivisyys
Jakso 4–25	Intensiivisyys ja klusterin tiheys
Jaksosta 25 ajon päättymiseen saakka	Intensiivisyys, klusterin tiheys, PF-%, tuotto ja Q-pisteet

Ajon jälkeisen pesun suorittaminen

Ajon jälkeinen pesu on vakiomallinen instrumenttipesu, joka suoritetaan sekvensointiajojen välissä. Suorita aina instrumenttipesu, kun sekvensointiajo on suoritettu loppuun. Noudata ohjelmiston kehotuksia pesukomponenttien lataamisesta ja pesun suorittamisesta. Ajon jälkeinen pesu kestää noin 20 minuuttia.

Käynnistä pesu heti ajon jälkeen. Instrumenttipesu on suoritettava, ennen kuin voit määrittää seuraavan ajon. Jotta voit suorittaa ajon jälkeisen pesun muulloin kuin heti ajon jälkeen, voit alustaa pesun Perform Wash (Suorita ajo) -näytön komennon avulla.

Säännöllisillä instrumenttipesuilla varmistetaan jatkuva suorituskyky seuraavasti:

- Fluidistorilinjoilta ja annostelijoista huuhdellaan pois reagenssijäämät
- Ehkäistään suolan kertymistä ja kiteytymistä fluidistorilinjoihin ja annostelijoihin
- Ehkäistään edellisen ajon aiheuttamaa ristikontaminaatiota

Voit valinnaisesti suorittaa ajon jälkeisen pesun, johon sisältyy mallilinjapesu natriumhypokloriittiliuoksella (NaOCl). Pesu kestää noin 30 minuuttia. Katso kohta *Mallilinjapesun toimenpide* sivulla 26.

HUOM Jätä käytetty virtauskyvetti instrumenttiin. Virtauskyvetti on ladattava instrumenttiin instrumenttipesun suorittamiseksi.

Käyttäjän hankittaviksi jäävät tarvikkeet

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, tuotenro P7949)
- Laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi
- NaOCl (käytetään ajon jälkeisessä ajossa, johon sisältyy mallilinjapesu)
- MiSeq-putki (osanro MS-102-9999) (ajon jälkeisiin pesuihin, joihin sisältyy mallilinjapesu)

Toimenpide

1. Valmistele uusi pesuliuos Tween 20:lla ja laboratoriokäyttöön sopivalla vedellä seuraavasti:
   a. Lisää 5 ml 100-prosenttista Tween 20 -liuosta 45 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 10-prosenttista Tween 20 -liuosta.
   b. Lisää 25 ml 10-prosenttista Tween 20 -liuosta 475 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 0,5-prosenttista Tween 20 -pesuliuosta.
   c. Sekoita kääntelemällä useita kertoja.
2. Valmistele pesukomponentit uudella 0,5-prosenttisella Tween 20 -pesuliuoksella seuraavasti:
   a. Lisää 6 ml pesuliuosta pesualustan kuhunkin säiliöön.
   b. Lisää 350 ml pesuliuosta 500 ml:n pesupulloon.
3. Valitse ajon jälkeisen pesun näytöltä **Start Wash** (Käynnistä pesu). Ohjelmisto nostaa annostelijat automaattisesti reagenssijäähdyttimessä. Odota useita sekunteja ennen jatkamista varmistaaksesi, että annostelijat on nostettu kokonaan ylös.
   Älä valitse **Perform optional template line wash** (Suorita valinnainen mallilinjapesu) ajon jälkeisen pesun näytöltä. Mallilinjapesuun vaaditaan muu toimenpide. Katso kohta *Mallilinjapesun toimenpide* sivulla 26.
4. Avaa reagenssilokeron ja reagenssijäähdyttimen luukku ja liu'uta käytettävä reagenssikasetti reagenssijäähdyttimestä.
5. Liu'uta pesualustaa reagenssijäähdyttimeen, kunnes se pysähtyy, ja sulje sitten reagenssijäähdyttimen luukku.
6. Nosta annostelijan kahvaa MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullon ja jätepullon edessä, kunnes se lukittuu paikalleen.
7. Poista MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullo ja korvaa se pesupullolla.

   HUOM Hävitä MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullo jokaisen ajon jälkeen. Älä käytä uudelleen mahdollisesti jäljellä olevaa MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -liuosta.

8. Poista jätepullo ja hävitä sisältö asianmukaisesti. Palauta jätepullo reagenssilokeroon.

   ⚠ VAROITUS

   Tämä reagenssisarja sisältää mahdollisesti vaarallisia kemikaaleja. Henkilövahinkoja voi aiheutua hengittämisestä, nielemisestä sekä iho- ja silmäkosketuksesta. Ilmanvaihdon on oltava asianmukaista reagensseissa olevien vaarallisten aineiden käsittelylle. Käytä altistumisriskiä vastaavia henkilönsuojaimia, kuten silmiensuojaimia, suojakäsineitä ja laboratoriotakkia. Käsittele käytettyjä reagensseja kemiallisena jätteenä ja hävitä ne sovellettavien alueellisten, kansallisten ja paikallisten lakien ja säädösten mukaisesti. Katso ympäristöä, terveyttä ja turvallisuutta koskevia lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta osoitteessa support.illumina.com/sds.html.

9. Laske annostelijan kahvaa hitaasti alas varmistaen, että annostelijat laskeutuvat pesu- ja jätepulloon.
10. Sulje reagenssilokeron luukku.
11. Valitse **Next** (Seuraava). Ajon jälkeinen pesu alkaa.

Kun pesu on suoritettu, jätä käytetty virtauskyvetti, pesualusta ja jäljelle jäävän pesuliuoksen sisältävä pesupullo laitteeseen.

HUOM Annostelijat jäävät ala-asentoon, mikä on normaalia. Jätä käyttämätön pesuliuos pesualustalle ja pesupulloon, jotta annostelijat eivät kuivu ja jotta ilma ei pääse järjestelmään.

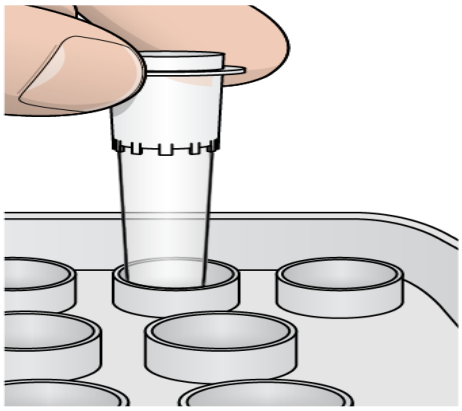
Mallilinjapesun toimenpide

1. Valmistele uusi pesuliuos Tween 20:lla ja laboratoriokäyttöön sopivalla vedellä seuraavasti.
   a. Lisää 5 ml 100-prosenttista Tween 20 -liuosta 45 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 10-prosenttista Tween 20 -liuosta.
   b. Lisää 25 ml 10-prosenttista Tween 20 -liuosta 475 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 0,5-prosenttista Tween 20 -pesuliuosta.
   c. Sekoita kääntelemällä viisi kertaa.
2. Valmistele uusi NaOCl-pesuliuos laboratoriokäyttöön sopivalla vedellä seuraavasti.
   a. Lisää 36 µl 5-prosenttista NaOCl-liuosta 864 µl:aan laboratoriokäyttöön tarkoitettua vettä. Näillä tilavuuksilla saadaan NaOCl-liuos, jonka laimennussuhde on 1:25.
   b. Lisää 50 µl NaOCl-liuosta, jonka laimennussuhde on 1:25, 950 µl:aan laboratoriokäyttöön tarkoitettua vettä MiSeq-putkessa (osanro MS-102-9999).

   HUOM Oikean NaOCl-pitoisuuden käyttö on tärkeää. Tarkista ehdottomasti NaOCl-prosenttiosuus tuote-etiketistä. Jos pitoisuus on liian korkea, se saattaa johtaa klustereiden luonnin epäonnistumiseen myöhemmissä ajoissa. Jos 5-prosenttista NaOCl-liuosta ei ole saatavilla, valmista 1 ml 0,01-prosenttista NaOCl-liuosta laboratoriokäyttöön sopivaan veteen. Älä käytä NaOCl-liuosta huolto- tai valmiustilapesun yhteydessä.

3. Valmistele pesukomponentit uudella pesuliuoksella seuraavasti.
   a. Lisää 6 ml pesuliuosta pesualustan kuhunkin säiliöön, lukuun ottamatta säiliötä numero 17.

Kuva 15 MiSeq-putki pesualustan asemassa 17



HUOM Asenna ehdottomasti MiSeq-putki, jossa on NaOCl-liuosta, vain alustan asemaan 17. Putken asettaminen muuhun asemaan saattaa johtaa klustereiden luonnin epäonnistumiseen myöhemmissä ajoissa ja vahingoittaa MiSeqDx-instrumentin fluidistorijärjestelmää.

4. Kun ajo on valmis, valitse **Start Wash** (Käynnistä pesu).
   Ohjelmisto nostaa annostelijat automaattisesti reagenssijäähdyttimessä.
5. Valitse **Perform optional template line wash** (Suorita valinnainen mallilinjapesu) Post-Run Wash (Ajon jälkeinen pesu) -näytöltä.
   VeriSeq PGS -työnkulkua käytettäessä **Perform optional template line wash** (Suorita vaihtoehto mallilinjapesussa) on esivalittu puolestasi. MCS seuraa jokaisen ajon jälkeen suoritettua jälkipesua. **Jos Perform optional template line wash** (Suorita valinnainen mallilinjapesu) **-toimintoa ei ole valittu ajon jälkeiselle pesulle,** ajon tarkastelunäytössä oleva viesti muistuttaa, kun aloitat ajon sekvensoinnin seuraavan kerran.
6. Avaa reagenssilokeron ja reagenssijäähdyttimen luukku ja liu'uta käytettävä reagenssikasetti reagenssijäähdyttimestä.
7. Liu'uta pesualustaa reagenssijäähdyttimeen, kunnes se pysähtyy, ja sulje sitten reagenssijäähdyttimen luukku.
8. Nosta annostelijan kahvaa MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullon ja jätepullon edessä, kunnes se lukittuu paikalleen.
9. Poista MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullo ja korvaa se pesupullolla.

   HUOM Hävitä MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullo jokaisen ajon jälkeen. Älä käytä uudelleen mahdollisesti jäljellä olevaa MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -liuosta.

10. Poista jätepullo ja hävitä sisältö asianmukaisesti. Palauta jätepullo reagenssilokeroon.

VAROITUS

Tämä reagenssisarja sisältää mahdollisesti vaarallisia kemikaaleja. Henkilövahinkoja voi aiheutua hengittämisestä, nielemisestä sekä iho- ja silmäkosketuksesta. Käytä altistumisriskiä vastaavia henkilönsuojaimia, kuten silmiensuojaimia, suojakäsineitä ja laboratoriotakkia. Käsittele käytettyjä reagensseja kemiallisena jätteenä ja hävitä ne sovellettavien alueellisten, kansallisten ja paikallisten lakien ja säädösten mukaisesti. Saat ympäristöä, terveyttä ja turvallisuutta koskevia lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta (KTT) osoitteessa support.illumina.com/sds.html.

11. Laske annostelijan kahvaa hitaasti alas varmistaen, että annostelijat laskeutuvat pesu- ja jätepulloon.
12. Sulje reagenssilokeron luukku.
13. Valitse **Next** (Seuraava). Ajon jälkeinen pesu alkaa.
    Kun pesu on suoritettu, jätä käytetty virtauskyvetti, pesualusta ja jäljelle jäävän pesuliuoksen sisältävä pesupullo laitteeseen.

    HUOM Annostelijat jäävät ala-asentoon, mikä on normaalia. Jätä käyttämätön pesuliuos pesualustalle ja pesupulloon, jotta annostelijat eivät kuivu ja jotta ilma ei pääse järjestelmään.

    b. Lisää 350 ml pesuliuosta 500 ml:n pesupulloon.
14. Vie MiSeq-putkea, jossa on 0,01-prosenttista NaOCl-pesuliuosta pesualustan säiliöön 17, kunnes putken kaula on tasoissa alustan kanssa.

Huolto

Huoltotiheys

Suorita tässä luvussa kuvatut huoltotoimenpiteet seuraavissa taulukoissa esitetyin aikavälein.

Taulukko 1 Huolto normaalin käytön aikana

Toiminta	Kuukausittain	Tarpeen mukaan
Huoltopesu	X	
Valmiustilapesu		Lepotilan valmistelu (≥ 7 päivää käyttämättömänä)
Instrumentin sammuttaminen		X

Taulukko 2 Huolto lepotilassa (≥ 7 vuorokautta käyttämättömänä)

Toiminta	Kuukausittain	Tarpeen mukaan
Valmiustilapesu	X	
Instrumentin sammuttaminen		X

Ennakoiva huolto

Illumina suosittelee yhtä ennaltaehkäisevää huoltoa kalenterivuodessa. Jos sinulla ei ole palvelusopimusta, ota yhteyttä alueen yhteyspäällikköön tai Illumina-yhtiön tekniseen tukeen laskutettavan ennakoivan huoltopalvelun järjestämistä varten.

Huoltopesun suorittaminen

Suorita optimaalisen suorituskyvyn varmistamiseksi huoltopesu 30 vuorokauden välein. Huoltopesun suorittaminen kestää noin 90 minuuttia. Huoltopesuun sisältyy kolmen pesuvaiheen sarja, jossa järjestelmä huuhdellaan perusteellisesti pesuliuoksella, jossa laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi on sekoitettu Tween 20 -liuokseen.

Voit määrittää laitteen suorittamaan ajojen välissä huoltopesun ajon jälkeisen pesun sijasta. Katso kohta *Ajon jälkeisen pesuvaihtoehdon määrittäminen* sivulla 8.

Käyttäjän hankittaviksi jäävät tarvikkeet

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, tuotenro P7949)
- Laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi

HUOMIO

Sulje aina reagenssijäähdyttimen luukku pesualustan lataamisen jälkeen ja ennen pesun aloittamista. Tämän vaiheen suorittamisella estetään mahdolliset vammat, joita voisi syntyä, jos kätesi ovat annostelijoiden tiellä niiden laskeutuessa.

Toimenpide

1. Varmista, että käytettävä virtauskyvetti on ladattu instrumenttiin.
2. Valitse Home (Aloitus) -näytössä **Perform Wash** (Suorita pesu).
3. Valitse Perform Wash (Pesun suorittaminen) -näytössä **Maintenance Wash** (Huoltopesu). Ohjelmisto nostaa annostelijat automaattisesti reagenssijäähdyttimessä.

HUOM Käytä aina uutta pesuliuosta kuhunkin pesuvaiheeseen. Aiemman pesun pesuliuoksen uudelleenkäyttö saattaa palauttaa jätettä fluidistorilinjoihin.

Ensimmäisen pesun suorittaminen

1. Valmistele uusi pesuliuos Tween 20:lla ja laboratoriokäyttöön sopivalla vedellä seuraavasti.
   a. Lisää 5 ml 100-prosenttista Tween 20 -liuosta 45 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 10-prosenttista Tween 20 -liuosta.
   b. Lisää 25 ml 10-prosenttista Tween 20 -liuosta 475 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 0,5-prosenttista Tween 20 -pesuliuosta.
   c. Sekoita kääntelemällä useita kertoja.
2. Valmistele pesukomponentit uudella 0,5-prosenttisella Tween 20 -pesuliuoksella seuraavasti:
   a. Lisää 6 ml pesuliuosta pesualustan kuhunkin säiliöön.
   b. Lisää 350 ml pesuliuosta 500 ml:n pesupulloon.
3. Lataa pesualusta ja pesupullo instrumenttiin:
   a. Avaa reagenssilokeron ja reagenssijäähdyttimen luukku ja liu'uta käytettävä reagenssikasetti tai pesualusta reagenssijäähdyttimestä.
   b. Liu'uta pesualustaa reagenssijäähdyttimeen, kunnes se pysähtyy. Sulje reagenssijäähdyttimen luukku.
   c. Nosta annostelijan kahvaa MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullon ja jätepullon edessä, kunnes se lukittuu paikalleen, ja vaihda MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullo pesupulloon.

   HUOM Hävitä MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullo jokaisen ajon jälkeen. Älä käytä uudelleen mahdollisesti jäljellä olevaa MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -liuosta.

   d. Poista jätepullo ja hävitä sisältö asianmukaisesti. Palauta jätepullo reagenssilokeroon.

e. Laske annostelijan kahvaa hitaasti alas varmistaen, että annostelijat laskeutuvat pesu- ja jätepulloon.

f. Sulje reagenssilokeron luukku.

4. Valitse **Next** (Seuraava). Ensimmäinen pesu alkaa.

Toisen pesun suorittaminen

1. Valmistele uusi pesuliuos Tween 20:lla ja laboratoriokäyttöön sopivalla vedellä seuraavasti.
   a. Lisää 5 ml 100-prosenttista Tween 20 -liuosta 45 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 10-prosenttista Tween 20 -liuosta.
   b. Lisää 25 ml 10-prosenttista Tween 20 -liuosta 475 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 0,5-prosenttista Tween 20 -pesuliuosta.
   c. Sekoita kääntelemällä useita kertoja.
2. Kun ensimmäinen pesu on valmis, poista pesualusta ja pesupullo ja hävitä jäljelle jäävä pesuliuos.
3. Täytä pesukomponentit uudella 0,5-prosenttisella Tween 20 -pesuliuoksella seuraavasti:
   a. Lisää 6 ml pesuliuosta pesualustan kuhunkin säiliöön.
   b. Lisää 350 ml pesuliuosta 500 ml:n pesupulloon.
4. Lataa pesualusta ja pesupullo seuraavasti:
   a. Liu'uta pesualustaa reagenssijäähdyttimeen, kunnes se pysähtyy. Sulje reagenssijäähdyttimen luukku.
   b. Lataa pesupullo ja laske annostelijan kahvaa hitaasti alaspäin varmistaen, että annostelijat laskeutuvat pesu- ja jätepulloon.
   c. Sulje reagenssilokeron luukku.
5. Valitse **Next** (Seuraava). Toinen pesu alkaa.

Viimeisen pesun suorittaminen

1. Valmistele uusi pesuliuos Tween 20:lla ja laboratoriokäyttöön sopivalla vedellä seuraavasti.
   a. Lisää 5 ml 100-prosenttista Tween 20 -liuosta 45 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 10-prosenttista Tween 20 -liuosta.
   b. Lisää 25 ml 10-prosenttista Tween 20 -liuosta 475 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 0,5-prosenttista Tween 20 -pesuliuosta.
   c. Sekoita kääntelemällä useita kertoja.
2. Kun toinen pesu on valmis, poista pesualusta ja pesupullo ja hävitä jäljelle jäävä pesuliuos.
3. Täytä pesukomponentit uudella 0,5-prosenttisella Tween 20 -pesuliuoksella seuraavasti:
   a. Lisää 6 ml pesuliuosta pesualustan kuhunkin säiliöön.
   b. Lisää 350 ml pesuliuosta 500 ml:n pesupulloon.
4. Lataa pesualusta ja pesupullo seuraavasti:

a. Liu'uta pesualustaa reagenssijäähdyttimeen, kunnes se pysähtyy. Sulje reagenssijäähdyttimen luukku.
b. Lataa pesupullo ja laske annostelijan kahvaa hitaasti alaspäin varmistaen, että annostelijat laskeutuvat pesu- ja jätepulloon.
c. Sulje reagenssilokeron luukku.

5. Valitse **Next** (Seuraava). Viimeinen pesu alkaa.

Pesun jälkeen

Kun pesu on suoritettu, jätä käytetty virtauskyvetti, pesualusta ja jäljelle jäävän pesuliuoksen sisältävä pesupullo laitteeseen.

HUOM Annostelijat jäävät ala-asentoon, mikä on normaalia. Jätä käyttämätön pesuliuos pesualustalle ja pesupulloon, jotta annostelijat eivät kuivu ja jotta ilma ei pääse järjestelmään.

Valmiustilapesun suorittaminen

Mikäli instrumenttia ei aiota käyttää seuraavien 7 vuorokauden aikana, valmistele instrumentti lepotilaan suorittamalla valmiustilapesu. Valmiustilapesulla fluidistorilinjat valmistellaan lepotilaan ja suoritetaan kaksi perättäistä pesua, joilla jokaisesta asemasta huuhdellaan mahdolliset jäljelle jääneet reagenssit tai suolakertymät. Jokainen pesu kestää noin 60 minuuttia. Varaa koko valmiustilapesun suorittamiseen noin kaksi tuntia.

Kun valmiustilapesu on valmis, instrumentti on valmiustilassa, ja aloitusnäytölle tulee viesti, jossa ilmoitetaan instrumentin tila. Kun instrumentti on valmiustilassa, on suoritettava huoltopesu, ennen kuin sekvensointiajo voidaan alustaa.

HUOM Illumina suosittelee valmiustilapesun toistamista *30 vuorokauden välein* sinä aikana, kun instrumentti on lepotilassa.

Käyttäjän hankittaviksi jäävät tarvikkeet

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, tuotenro P7949)
- Laboratoriokäyttöön tarkoitettu vesi tai deionisoitu vesi (katso laboratoriokäyttöön tarkoitettua vettä koskevat ohjeet asiakirjasta *MiSeqDx-laitteen käyttöpaikan valmisteluohje (asiakirjanro 15070066)*)

Toimenpide

1. Varmista, että käytettävä virtauskyvetti on ladattu instrumenttiin.
2. Valitse Home (Aloitus) -näytössä **Perform Wash** (Suorita pesu).

3. Valitse Wash Options (Pesuvaihtoehdot) -näytöltä **Standby Wash** (Valmiustilapesu). Ohjelmisto nostaa annostelijat automaattisesti reagenssijäähdyttimessä.

   HUOM Käytä aina uutta pesuliuosta kuhunkin pesuvaiheeseen. Aiemman pesun pesuliuoksen uudelleenkäyttö saattaa palauttaa jätettä fluidistorilinjoihin.

Ensimmäisen pesun suorittaminen

1. Valmistele uusi pesuliuos Tween 20:lla ja laboratoriokäyttöön sopivalla vedellä seuraavasti.
   a. Lisää 5 ml 100-prosenttista Tween 20 -liuosta 45 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 10-prosenttista Tween 20 -liuosta.
   b. Lisää 25 ml 10-prosenttista Tween 20 -liuosta 475 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 0,5-prosenttista Tween 20 -pesuliuosta.
   c. Sekoita kääntelemällä useita kertoja.
2. Valmistele pesukomponentit uudella 0,5-prosenttisella Tween 20 -pesuliuoksella seuraavasti:
   a. Lisää 6 ml pesuliuosta pesualustan kuhunkin säiliöön.
   b. Lisää 350 ml pesuliuosta 500 ml:n pesupulloon.
3. Lataa pesualusta ja pesupullo instrumenttiin:
   a. Avaa reagenssilokeron ja reagenssijäähdyttimen luukku ja liu'uta käytettävä reagenssikasetti tai pesualusta reagenssijäähdyttimestä.
   b. Liu'uta pesualustaa reagenssijäähdyttimeen, kunnes se pysähtyy. Sulje reagenssijäähdyttimen luukku.
   c. Nosta annostelijan kahvaa MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullon ja jätepullon edessä, kunnes se lukittuu paikalleen, ja vaihda MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullo pesupulloon.

      HUOM Hävitä MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullo jokaisen ajon jälkeen. Älä käytä uudelleen mahdollisesti jäljellä olevaa MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -liuosta.

   d. Poista jätepullo ja hävitä sisältö asianmukaisesti. Palauta jätepullo reagenssilokeroon.
   e. Laske annostelijan kahvaa hitaasti alas varmistaen, että annostelijat laskeutuvat pesu- ja jätepulloon.
   f. Sulje reagenssilokeron luukku.
4. Valitse **Next** (Seuraava). Ensimmäinen pesu alkaa.

Toisen pesun suorittaminen

1. Valmistele uusi pesuliuos Tween 20:lla ja laboratoriokäyttöön sopivalla vedellä seuraavasti.
   a. Lisää 5 ml 100-prosenttista Tween 20 -liuosta 45 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 10-prosenttista Tween 20 -liuosta.

b. Lisää 25 ml 10-prosenttista Tween 20 -liuosta 475 ml:aan laboratoriokäyttöön sopivaa vettä. Näitä tilavuuksia käyttämällä saadaan 0,5-prosenttista Tween 20 -pesuliuosta.
c. Sekoita kääntelemällä useita kertoja.

2. Kun ensimmäinen pesu on valmis, poista pesualusta ja pesupullo ja hävitä jäljelle jäävä pesuliuos.
3. Täytä pesukomponentit uudella 0,5-prosenttisella Tween 20 -pesuliuoksella seuraavasti:
   a. Lisää 6 ml pesuliuosta pesualustan kuhunkin säiliöön.
   b. Lisää 350 ml pesuliuosta 500 ml:n pesupulloon.
4. Lataa pesualusta ja pesupullo seuraavasti:
   a. Liu'uta pesualustaa reagenssijäähdyttimeen, kunnes se pysähtyy. Sulje reagenssijäähdyttimen luukku.
   b. Lataa pesupullo ja laske annostelijan kahvaa hitaasti alaspäin varmistaen, että annostelijat laskeutuvat pesu- ja jätepulloon.
   c. Sulje reagenssilokeron luukku.
5. Valitse **Next** (Seuraava). Toinen pesu alkaa.

Pesun jälkeen

Kun pesu on suoritettu, jätä käytetty virtauskyvetti, pesualusta ja jäljelle jäävän pesuliuoksen sisältävä pesupullo laitteeseen.

HUOM Annostelijat jäävät ala-asentoon, mikä on normaalia. Jätä käyttämätön pesuliuos pesualustalle ja pesupulloon, jotta annostelijat eivät kuivu ja jotta ilma ei pääse järjestelmään.

Laitteen virran katkaiseminen

On parasta pitää instrumentin virta aina kytkettynä. Jos instrumentti on kuitenkin sammutettava, sammuta Windows suorittamalla seuraava toimenpide, ja valmistele fluidistorilinjat.

1. Suorita huoltopesu. Katso lisätietoja kohdasta *Toimenpide* sivulla 30.
2. Poista jätepullo ja hävitä sisältö asianmukaisesti. Palauta jätepullo reagenssilokeroon.
3. Sulje reagenssilokeron luukku.
4. Valitse päävalikosta **Shut Down Instrument** (Sammuta laite).
   Laitteen ohjelmisto sammutetaan tällä komennolla.
5. Käännä virtakytkin OFF-asentoon.

HUOM Kun laitteen virta on katkaistu, odota *vähintään* 60 sekuntia ennen kuin asetat virtakytkimen takaisin ON-asentoon.

Vianmääritys

Johdanto

Tässä osiossa kuvataan yleisiä vianmääritysvaiheita, joihin on ryhdyttävä ennen kuin otetaan yhteys Illumina-yhtiön tekniseen tukeen. Useimpien virheiden kohdalla näkyviin tulee näyttöviesti, jossa annetaan ohjeet virheen korjaamiseksi.

Voit etsiä teknisiin kysymyksiin vastauksia Illumina-tukisivuston MiSeqDx-verkkosivulta. Tukisivuilla on saatavilla dokumentaatiota, ladattavia tiedostoja ja vastauksia usein kysyttyihin kysymyksiin. Kirjautumalla My Illumina -tilillesi pääset lukemaan tukitiedotteita.

Ajon laatu- tai suorituskykyongelmia koskevissa kysymyksissä ota yhteyttä Illumina-yhtiön tekniseen tukeen. Ks. lisätietoja kohdasta *Tekninen tuki* sivulla 46.

Illumina-yhtiön teknisen tuen edustajat pyytävät tavallisesti ajokohtaisten tiedostojen kopioita vianmääritystarkoituksia varten. Voit käyttää Manage Files (Tiedostonhallinta) -näytön Bundle Logs (Nippulokit) -ominaisuutta vianmääritykseen tarvittavien tiedostojen yhdistämiseen ja pakkaamiseen.

Nippulokit vianmääritykseen

Bundle Logs (Niputa lokit) on toiminto, jolla tiedostot niputetaan lähetettäväksi Illumina-yhtiön tekniselle tuelle vianmääritystä varten. Käytä Manage Files (Tiedostonhallinta) -näytön Bundle Logs (Nippulokit) -välilehteä valitaksesi ryhmän tiedostoja eli *nipun*. Nippu pakataan automaattisesti.

Bundle Logs (Niputa lokit) -toiminnolla ajon tiedostot ryhmitetään yhdeksi nipputyypiksi kerrallaan. Toista Bundle Logs (Niputa lokit) -toimenpide kunkin sellaisen ajon ja nipputyypin kohdalla, joita Illumina-yhtiön teknisestä tuesta pyydetään.

1. Valitse Manage Files (Tiedostonhallinta) -näytöltä **Bundle Logs** (Nippulokit) -välilehti.
2. Valitsemalla **Browse** (Selaa) voit navigoida MiSeqOutput-kansion sijaintipaikkaan.
3. Valitse ajon vieressä oleva valintaruutu.
4. Valitse **Bundle Logs** (Nippulokit).
   Näkyviin tulee Bundle Files (Nippulokit) -näyttö, jossa on tietoja nipusta, muun muassa luettelo nipun sisältämistä yksittäisistä tiedostoista.
   Lisätietoja Bundle Logs (Niputa lokit) -toiminnon yksittäisistä kansioista ja tiedostoista on asiakirjassa *MiSeq-tuotos- ja analyysikansioiden pikaohjekortti (asiakirja nro 15034791)*.
5. Valitse **Next** (Seuraava).
6. Siirry kohtaan, johon haluat tallentaa pakatut nipputiedostot.
7. Valitse **Save** (Tallenna).
   Kun tiedostojen niputus on valmis, Bundle Logs (Nippulokit) -välilehti avautuu uudelleen.
8. Lähetä pakattu nippu Illumina-yhtiön tekniseen tukeen.

Järjestelmätarkistuksen suorittaminen

Jotkin järjestelmätarkistukset, kuten tilavuustesti, voidaan suorittaa ennen yhteyden ottamista Illumina-yhtiön tekniseen tukeen. Tilavuustestillä tarkistetaan fluidistorijärjestelmän kunto arvioimalla virtaustilavuus kuplien kulkiessa antureiden läpi. Katso lisätietoja kohdasta *Tilavuustestin suorittaminen* sivulla 41.

HUOMIO

Tip/Tilt (Kaato/kallistus)- ja Full Optics (Täysi optiikka) -testit vaativat erikoisvirtauskyvetin, ja ainoastaan Illumina-yhtiön teknikko saa suorittaa ne.

1. Valitse päävalikosta **System Check** (Järjestelmätarkistus).
2. Toimi toisella seuraavista tavoista:
   - Valitse yksittäiset testit, jotka haluat suorittaa.
   - Valitse **Select All** (Valitse kaikki), jos haluat suorittaa kaikki testit.
3. Valitse **Next** (Seuraava).
   Kun testi on suoritettu, tulokset tulevat näkyviin näytöllä.
4. **[Valinnainen]** Valitsemalla **Show Details** (Näytä yksityiskohdat) näet tiivistelmän tuloksista ohjelmiston käyttöliittymässä.
5. **[Valinnainen]** Valitsemalla **Export Results** (Vie tulokset) voit viedä tulokset *.csv-tiedostomuodossa USB-asemaan.
6. Valitse **Done** (Valmis).

Aseta ajo tauolle tai keskeytä se

MiSeqDx on suunniteltu suorittamaan ajon alusta loppuun ilman käyttäjän suorittamia toimia. Ajo voidaan kuitenkin asettaa tauolle tai keskeyttää Sequencing (Sekvensointi) -näytöltä.

Ajon asettaminen tauolle

Voit asettaa ajon väliaikaisesti tauolle ennen sen päättymistä. Voit asettaa ajon tauolle, esimerkiksi jos epäilet, että vesipullo on täynnä. Tauolle asetettuja ajoja voidaan jatkaa.

Kun valitset **Pause** (Tauko) -painikkeen, senhetkinen komento suoritetaan loppuun ennen ajon asettamista tauolle ja virtauskyvetin asettamista turvalliseen tilaan.

HUOMIO

Älä aseta ajoa tauolle klusterin luonnin aikana tai sekvensoinnin viiden ensimmäisen jakson aikana. Tänä aikana tauolle asetettua ajoa ei voida jatkaa.

Voit asettaa ajon tauolle Sequencing (Sekvensointi) -näytölle valitsemalla **Pause** (Tauko). Painike muuttuu **Resume** (Jatka) -painikkeeksi. Kun olet valmis jatkamaan ajoa, valitse **Resume** (Jatka).

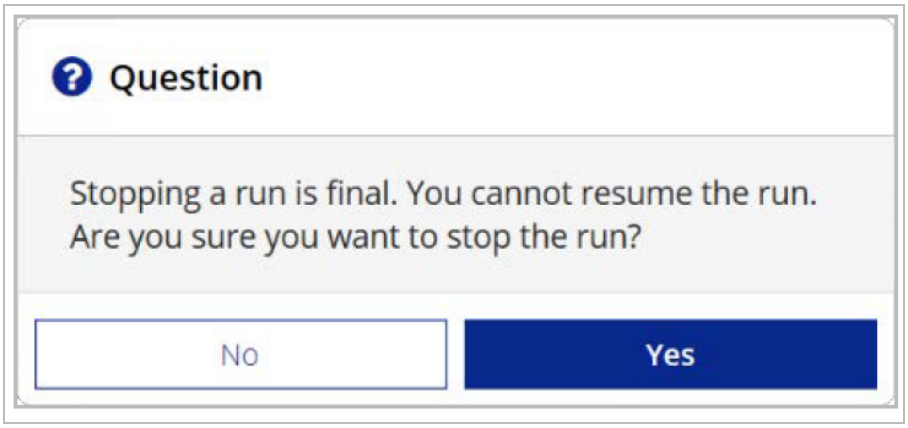
Ajon keskeyttäminen

Voit keskeyttää ajon sekvensoinnin aikana ennen ajon päättymistä käyttämällä Sequencing (Sekvensointi) -näytöllä näkyvää **Stop** (Pysäytä) -painiketta. Voit keskeyttää ajon, jos ajon asetukset on määritetty väärin, tietojen laatu on heikko tai tapahtuu laitteistovirhe.

Kun ajo on pysäytetty, nykyistä komentoa ei suoriteta loppuun, ja virtauskyvetin vaihe siirtyy eteenpäin suuntautuneeseen asentoon. Ensisijainen analyysi jatkuu viimeisen valmistuneen jakson kohdalla.

Voit asettaa ajon tauolle Sequencing (Sekvensointi) -näytöltä valitsemalla **Stop**.

Kuva 16 Ajon keskeyttäminen



Ajon keskeyttäminen on peruuttamatonta. Keskeytettyä ajoa ei voida jatkaa. Ainoana vaihtoehtona on jatkaa instrumenttipesuun.

Reagenssikasettien annostelijoiden manuaalinen nostaminen

Reagenssikasetin annostelijat eivät ehkä nouse automaattisesti, jos ajo keskeytettiin odottamattomasti tai jos ajon aikana tapahtui virhe. Voit poistaa reagenssikasetin nostamalla reagenssikasetin annostelijat manuaalisesti.

1. Valitse Home (Aloitus) -näytöllä **Perform Wash** (Suorita pesu).
2. Valitse **Raise Sippers** (Nosta annostelijat).
3. Poista reagenssikasetti.

Ajon asetusvirheiden ratkaiseminen

Mikäli jotkin ajoa edeltävän tarkistuksen tarkistukset epäonnistuvat, punainen kuvake ✗ tulee näkyviin kyseisen kohteen vieressä. Näytöllä tulee näkyviin viesti, jossa kuvataan virhettä ja sen korjaamista.

Virhe	Toimenpide
Flow Rate Measured (Mitattu virtausnopeus)	Virtausnopeustarkistuksen näyttö avataan. Syötä seuraavat tiedot pudotusvalikon tai näytöllä olevan näppäimistön avulla: • Ratkaisu: **PR2** • Tilavuus: **250** • Aspirointinopeus: **2500** • Annostelunopeus: **2500** Valitse **Pump** (Pumppu). Jos virheen korjaus ei onnistu, määritä pumpattavaksi tilavuudeksi 500 µl MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -liuosta ja toista prosessi vielä kerran. Kun nesteet on pumpattu, valitse **Restart Check** (Käynnistä tarkistus uudelleen). Kun ajoa edeltävä tarkistus onnistuu, **Start Run** (Käynnistä ajo) -painike aktivoituu. Jos virtaustarkistus epäonnistuu jälleen, asenna virtauskyvetti takaisin paikalleen varmistaaksesi, että virtaus ei keskeydy virheellisen kohdistuksen vuoksi. Tarkista virtauskyvetin tiiviste nukan tai poikkeavuuksien varalta.
Free Disk Space (Vapaa levytila)	Jos levytilaa on vähän, näkyviin tulee viesti, jossa ilmoitetaan, miten paljon levytilaa tarvitaan. Voit tyhjentää tarvittavan tilan instrumenttitietokoneelta **Manage Files** (Tiedostonhallinta) -ominaisuuden avulla.
Network Connection Active (Aktiivinen verkkoyhteys)	Varmista, että verkkokaapeli on kytketty instrumenttiin. Jos verkkoyhteys ei palaudu, valitse **Reboot** (Uudelleenkäynnistys) Manage Instrument (Instrumentinhallinta) -näytöltä, jotta voit käynnistää ohjelmiston uudelleen. Ellei yhteyttä edelleenkään saada palautettua, valitse **Shut Down** (Sammuta) Manage Instrument (Instrumentinhallinta) -näytöltä ja katkaise sitten instrumentin virta virtakytkimellä. Odota vähintään 60 sekuntia ja kytke sitten instrumentin virta ja käynnistä ohjelmisto.
Primary Analysis Ready (Ensisijainen analyysi valmis)	Edellisen ajon ensisijainen analyysi ei ole valmis. Oletusarvoinen aika, joka on varattava ensisijaisen analyysin suorittamiseen, on yksi tunti, ja aikalaskuri näkyy näytöllä. Vaihtoehtona on joko odottaa yksi tunti tai valita **Terminate Analysis** (Päätä analyysi). Toissijainen analyysi keskeyttää mahdolliset keskeneräiset jaksot.

RFID-lukuhäiriön ratkaiseminen

RFID-häiriöitä syntyy, jos:

- Ladattu osa ei ole osa *in vitro* diagnostiikkasarjaa.
- Ladattu osa ei ole osa Local Run Manager (Paikallinen ajonhallinta) -moduulin tunnistamaa sarjaa.

- Osan RFID-tunnisteen lukuun liittyy tekninen häiriö.

Seuraavien vaiheiden avulla voidaan ratkaista teknisestä häiriöstä johtuvat RFID-häiriöt.

HUOM Diagnostiikka-ajossa sallitaan yksi RFID-lukuhäiriö. Jos kahden tarvikkeen RFID-tunnistetta ei voida lukea, ohjelmisto ei voi jatkaa seuraavaan ajon asetusvaiheeseen. Jos tämä virhe tapahtuu, ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.

Virtauskyvetti

1. Yritä aina lukea RFID uudelleen ennen jatkamista. Näin voidaan tehdä avaamalla ja sulkemalla virtauskyvettilokeron luukku.
2. Jos RFID-häiriö ilmenee toisen kerran, valitse **Get Code** (Hanki koodi).
   Saat tilapäisen RFID-ohituskoodin ottamalla yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen. Tilapäinen ohituskoodi on voimassa seitsemän vuorokautta.
3. Syötä tilapäinen ohituskoodi näytön näppäimistöllä.
4. Valitse **Next** (Seuraava).
5. Syötä seuraavat tiedot:
   - Virtauskyvetin viivakoodinumero, joka on virtauskyvetin säiliön etiketissä heti viivakoodin alapuolella
   - Virtauskyvetin osanumero
6. Valitsemalla **Next** (Seuraava) voit jatkaa Load Flow Cell (Virtauskyvetin lataus) -näytölle.
7. Valitsemalla **Next** (Seuraava) voit jatkaa seuraavaan ajon asetusvaiheeseen.

MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullo

1. Yritä aina lukea RFID uudelleen ennen jatkamista. Voit tehdä sen nostamalla reagenssin annostelijan kahvan ja laskemalla sen sitten alas.
2. Jos RFID-häiriö ilmenee toisen kerran, valitse **Get Code** (Hanki koodi).
   Saat tilapäisen RFID-ohituskoodin ottamalla yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen. Tilapäinen ohituskoodi on voimassa seitsemän vuorokautta.
3. Syötä tilapäinen ohituskoodi näytön näppäimistöllä.
4. Valitse **Next** (Seuraava).
5. Syötä seuraavat tiedot:
   - MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullon viivakoodin numero, joka sijaitsee MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullon etiketissä suoraan viivakoodin alapuolella
   - MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -pullon osanumero
6. Valitsemalla **Next** (Seuraava) voit jatkaa Load Reagents (Reagenssien lataus) -näytölle.
7. Valitsemalla **Next** (Seuraava) voit jatkaa seuraavaan ajon asetusvaiheeseen.

Reagenssikasetti

1. Yritä aina lukea RFID uudelleen ennen jatkamista. Voit tehdä sen avaamalla reagenssijäähdyttimen luukun ja sulkemalla sen.
2. Jos RFID-häiriö ilmenee toisen kerran, valitse **Get Code** (Hanki koodi).
   Saat tilapäisen RFID-ohituskoodin ottamalla yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen. Tilapäinen ohituskoodi on voimassa seitsemän vuorokautta.
3. Syötä tilapäinen ohituskoodi näytön näppäimistöllä.
4. Valitse **Next** (Seuraava).
5. Syötä seuraavat tiedot:
   - Reagenssisarjan viivakoodinumero, joka sijaitsee sarjan etiketissä heti viivakoodin alapuolella
   - Reagenssisarjan osanumero
6. Valitsemalla **Next** (Seuraava) voit palata Load Reagents (Reagenssien lataus) -näytölle.
7. Valitsemalla **Next** (Seuraava) voit jatkaa seuraavaan ajon asetusvaiheeseen.

Uudelleenkäynnistysten ehkäiseminen ajon aikana

Jos MiSeqDx-laite käynnistyy uudelleen ajon aikana, se saattaa tarkoittaa, että verkon Windows-päivitysohjelmisto on määritetty asentamaan ohjelmistopäivitykset automaattisesti. Tämä asetus olisi pitänyt poistaa käytöstä asennuksen aikana. Ota yhteyttä paikalliseen IT-osastoon, jotta saat apua MiSeqDx:n taustalla toimivan Windows-käyttöjärjestelmän automaattisten päivitysten poistamiseksi käytöstä.

Vianmäärityksen virtausnopeusvirhe

Virtausnopeus on nopeus, jolla nesteet läpäisevät fluidistorijärjestelmän (µl/min). Se mitataan ennen kutakin ajoa ajoa edeltävän tarkistuksen aikana. Jos järjestelmä ei pysty mittaamaan virtausnopeutta, pumppaa reagenssia (MiSeqDx SBS -liuos (PR2)) järjestelmän läpi ennen virtausnopeuden tarkistamista uudelleen.

1. Syötä seuraavat tiedot pudotusvalikon tai näytöllä olevan näppäimistön avulla:
   - Ratkaisu: **PR2**
   - Tilavuus: **250 µl**
   - Aspirointinopeus: **2 500 µl/min**
   - Annostelunopeus: **2 500 µl/min**
2. Valitse **Pump** (Pumppu).
3. Kun pumppuvaihe on valmis, valitse **Restart Check** (Käynnistä tarkistus uudelleen).
4. Jos virheen korjaus ei onnistu, aseta pumpattavaksi tilavuudeksi 500 µl MiSeqDx SBS -liuos (PR2) -liuosta ja toista prosessi vielä kerran. Ota yhteyttä Illumina-yhtiön tekniseen tukeen, jos toinen yritys ei ratkaise ongelmaa.

Tilavuustestin suorittaminen

Fluidistorilinjojen tukos saattaa heikentää reagenssin antoa ja vaikuttaa sekvensointituloksiin. Mikäli epäillään fluidistorilinjojen tukosta, suorita tilavuustesti.

Tilavuustestillä tarkistetaan fluidistorijärjestelmän kunto arvioimalla kahden kuplan välinen tilavuus niiden kulkiessa anturien läpi. Tilavuustestin suorittamiseksi pesualusta ja pesupullo on täytettävä laboratoriokäyttöön sopivalla vedellä, ja käytettävän virtauskyvetin on oltava asennettuna. Suorita testi noudattamalla näytöllä olevia kehotteita.

1. Varmista, että käytettävä virtauskyvetti on ladattu instrumenttiin.
2. Valitse päävalikosta **System Check** (Järjestelmätarkistus).
3. Valitse **Conduct Volume Test** (Suorita tilavuustesti) ja sen jälkeen **Next** (Seuraava).
4. Täytä pesualustan kaikki säiliöt 6 ml:lla laboratoriokäyttöön sopivaa vettä.
5. Täytä 500 ml:n pesupullo 350 ml:lla laboratoriokäyttöön sopivaa vettä.
6. Lataa pesualusta ja pesupullo instrumenttiin.
   a. Avaa reagenssilokeron ja reagenssijäähdyttimen luukku ja liu'uta pesualustaa reagenssijäähdyttimeen, kunnes se pysähtyy. Sulje reagenssijäähdyttimen luukku.
   b. Nosta annostelijan kahvaa, kunnes se lukittuu paikalleen, ja lataa pesupullo.
   c. Poista jätepullo ja hävitä sisältö asianmukaisesti. Palauta jätepullo reagenssilokeroon.
   d. Laske annostelijan kahvaa hitaasti alas varmistaen, että annostelijat laskeutuvat pesu- ja jätepulloon.
7. Poista pesupullon annostelijasta mahdolliset pisarat noudattamalla näytöllä olevia kehotteita seuraavasti:
   a. Kun saat kehotteen, nosta annostelijan kahvaa hitaasti ja tarkista pesupullon annostelija suurten vesipisaroiden varalta.
   b. Kun saat kehotteen, nosta annostelijan kahvaa hitaasti niin korkealle veteen, että pintajännite poistaa vesipisaran.
   c. Kun saat kehotteen, nosta annostelijan kahvaa hitaasti ja tarkista pesupullon annostelija suurten vesipisaroiden varalta.
   d. Kun saat kehotteen, laske annostelijan kahva kokonaan alas varmistaen, että annostelijat laskeutuvat pesu- ja jätepulloon.
8. Valitse **Next** (Seuraava). Tilavuustesti alkaa.
   Kun tilavuustesti on suoritettu, tulokset tulevat näkyviin näytöllä.
   Jos testitulos hylätään, suorita huoltopesu. Katso kohta *Toimenpide* sivulla 30.
9. Kun huoltopesu on valmis, toista tilavuustesti.

Reagenssijäähdyttimen lämpötilavirheiden korjaaminen

Reagenssijäähdyttimen vaadittu lämpötila-alue on 2–11 °C. Anturin ilmaisin näyttää reagenssijäähdyttimen lämpötilan. Katso kohta *Anturimerkkivalot* sivulla 5.

Jos saat virheilmoituksen, jonka mukaan jäähdytin ei ole määritetyllä lämpötila-alueella, ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.

Mikäli jäähdyttimen lämpötila on alueen ulkopuolella, se saattaa estää sekvensointiajon käynnistymisen. Jos saat virheilmoituksen sekvensointiajon aikana, suorita ajo loppuun.

Katso lisätietoja reagenssijäähdyttimestä kohdasta *Reagenssilokero* sivulla 3.

Local Run Manager-analyysivirheiden korjaaminen

Saat analyysivirheisiin liittyvät vianmääritystiedot ottamalla yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen. *Local Run Manager v4 -ohjelmiston ohje MiSeqDx-järjestelmälle (asiakirjanro 200046657)* sisältää ohjeet analyysin asettamiseksi uudelleen jonoon.

Järjestelmäasetusten määrittäminen

MOS sisältää välilehtiä, joiden kautta päästään järjestelmän määrittämisessä tarvittaviin komentoihin.

- IP- ja DNS-asetukset määritetään IP-välilehdellä. Tämän ominaisuuden käyttö edellyttää Windowsin järjestelmänvalvojatason käyttöoikeuksia.
- Verkko- ja käynnistysasetukset määritetään seuraavilla välilehdillä:
  - Network Credentials (Verkon kirjautumistunnukset) — tämän ominaisuuden käyttö edellyttää Windowsin järjestelmänvalvojatason käyttöoikeuksia.
  - Start-Up Options (Käynnistysasetukset) — Tämän ominaisuuden käyttö edellyttää Local Run Manager-järjestelmänvalvojatason käyttöoikeuksia.

Nämä järjestelmäasetukset määritetään tavallisesti MiSeqDx-laitteen asennuksen aikana.

IP- ja DNS-asetusten määrittäminen

Määritä IP-osoite ja DNS-palvelinosoitteet, jos niitä tarvitaan verkoston tai laitoksen muutoksen vuoksi. Tämän ominaisuuden määrittäminen edellyttää Windowsin järjestelmänvalvojatason käyttöoikeuksia.

1. Valitse päävalikosta **System Settings** (Järjestelmäasetukset).
2. Valitse IP-välilehti ja valitse sitten jokin seuraavista vaihtoehdoista IP-osoitteen määrittämiseksi:
   - **Obtain an IP address automatically** (Hae IP-osoite automaattisesti) — Valitsemalla tämän vaihtoehdon voit hakea IP-osoitteen DHCP-palvelimelta.

     HUOM DHCP (Dynamic Host Configuration Protocol) on vakiomuotoinen verkkoprotokolla, jota IP-verkoissa käytetään verkon määritysparametrien dynaamiseen jakamiseen.

   - **Use the following IP address** (Käytä seuraavaa IP-osoitetta) — Valitse tämä vaihtoehto, jos haluat yhdistää instrumentin toiseen palvelimeen manuaalisesti seuraavassa esitetyllä tavalla. Toimipaikkakohtaiset osoitteet saat ottamalla yhteyttä verkonvalvojaan.
     - Anna IP-osoite. IP-osoite on neliosainen sarja numeroita, jonka osia erottaa toisistaan piste, esimerkiksi 168.62.20.37.
     - Anna aliverkon peite, joka on IP-verkon aliosa.
     - Anna oletusarvoinen yhdyskäytävä, joka on internetiin yhteydessä olevan verkon reititin.
3. Valitse jokin seuraavista vaihtoehdoista DNS-osoitteen määrittämiseksi:
   - **Obtain a DNS address automatically** (Hae DNS-osoite automaattisesti) — Lukee IP-osoitteeseen yhdistettävän DNS-osoitteen.
   - **Use the following DNS addresses** (Käytä seuraavia DNS-osoitteita) — Kytkee instrumentin palvelimeen, jolla toimialuenimet muunnetaan IP-osoitteiksi.
     - Anna haluamasi DNS-osoite. DNS-osoite on sen palvelimen nimi, jota käytetään verkkotunnusten kääntämiseen IP-osoitteiksi.
     - Anna vaihtoehtoinen DNS-osoite. Vaihtoehtoa käytetään, jos ensisijainen verkkotunnuspalvelin ei pysty kääntämään ensisijaista verkkotunnusta IP-osoitteeksi.
4. Valitse **Save** (Tallenna).

Verkko- ja käynnistysasetusten määrittäminen

Määritä verkko- ja käynnistysasetukset Network Credentials (Verkon kirjautumistunnukset) -välilehdellä (tämän ominaisuuden käyttö edellyttää Windowsin järjestelmänvalvojatason käyttöoikeuksia) ja Start-Up Options (Käynnistysasetukset) -välilehdellä (edellyttää Local Run Manager -ohjelmiston järjestelmänvalvojatason käyttöoikeuksia).

1. Valitse päävalikosta **System Settings** (Järjestelmäasetukset).
2. Valitse Network Credentials (Verkon kirjautumistunnukset) -välilehti ja määritä sitten verkkoasetukset seuraavasti.
3. Koneen nimi määritetään laitetietokoneelle valmistuksen yhteydessä. Koneen nimeä ei tavallisesti tarvitse muuttaa. Muutokset koneen nimeen tällä näytöllä voivat vaikuttaa yhteyden muodostamiseen, jolloin vaaditaan verkonvalvojan käyttäjätunnus ja salasana.
   Laitteen nimi tallennetaan laitenimeksi Local Run Manager -ohjelmiston tuotoksessa.
4. Yhdistä laitteen tietokone hallinta-alueeseen tai työryhmään seuraavasti.
   - **Laitteet, joissa on internetyhteys** — valitse **Domain** (Toimialue) ja anna sitten toimipaikkasi internet-yhteyteen liittyvä toimialueen nimi.
   - **Laitteet, joissa ei ole internetyhteyttä** — valitse **Workgroup** (Työryhmä) ja anna sitten työryhmän nimi.
5. Valitse Start-Up Options (Käynnistysasetukset) -välilehti ja valitse sitten toinen seuraavista vaihtoehdoista:
   - **Kiosk Mode** (Kioskitila) (suositus) — Näyttää ohjausohjelmiston koko näytön näkymässä. Ohjelmisto on suunniteltu käytettäväksi kioskitilassa.
   - **Windows Mode** (Windows-tila) — Sallii Windowsin käytön instrumenttitietokoneella. Vuorovaikutus ohjelmistoliittymän kanssa, kuten painikkeen sijainti, saattaa vääristyä tässä tilassa.
6. Valitse **Save** (Tallenna).

Tuotoskansiot

Ajokansiot

Jokaisessa MiSeqDx-ajossa luodaan kolme ajokansiota, joista jokaisella on tietty tarkoitus:

- **D:\Illumina\MiSeqTemp** — Kun ajo alkaa, tilapäinen ajokansio kirjoitetaan laitetietokoneen paikalliseen asemaan, ja sitä käytetään MOS:n ja RTA:n työskentelyalueena. Temp (Tilapäinen) -kansiota ei tarvitse käyttää. Tämän kansion sisältö poistetaan seitsemän vuorokauden jälkeen.
- **D:\Illumina\MiSeqOutput** — RTA kopioi tiedostot Temp (Tilapäinen) -kansiosta Output (Tuotos) -kansioon. Kun ensisijaisia analyysitiedostoja luodaan, RTA kopioi tiedostot takaisin Temp (Tilapäinen) -kansioon ja täyttää Analysis (Analyysi) -kansion. Tarkennuskuvia ja pikkukuvia ei kopioida Analysis (Analyysi) -kansioon.
- **D:\Illumina\MiSeqAnalysis** — Kun ensisijainen analyysi on valmis, Local Run Manager -ohjelmisto ottaa Analysis (Analyysi) -kansion käyttöön instrumentin paikallisessa asemassa toissijaisen analyysin aloittamiseksi. Kaikki Analysis (Analyysi) -kansioon kirjoitettavat tiedostot kopioidaan Output (Tuotos) -kansioon.

Pääkansion nimeäminen

Ajon pääkansion nimessä ilmoitetaan ajon päivämäärä, instrumentin numero sekä ajoon käytettävä virtauskyvetti. Jokaisen yksittäisen ajon jokaisessa ajokansiossa on sama pääkansion nimi.

Kansion nimessä käytetään oletusarvoisesti seuraavaa muotoa:

VVKKPP_<Laitenumero>_<Ajonumero>_A<VirtauskyvetinViivakoodi>

Ajonumero kasvaa yhdellä joka kerta, kun ajo suoritetaan tietyllä laitteella.

Tekninen tuki

Teknisissä kysymyksissä voit ottaa yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.

Verkkosivusto:	www.illumina.com
Sähköposti:	techsupport@illumina.com

Käyttöturvallisuustiedotteet (SDS) — saatavilla Illuminan verkkosivustolta osoitteesta support.illumina.com/sds.html.

Tuotedokumentaatio — ladattavissa verkkosivustolta support.illumina.com.

Illumina, Inc.
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566
(Pohjois-Amerikan ulkopuolella)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

IVD

EC REP

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

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

DIAGNOSTISEEN IN VITRO -KÄYTTÖÖN.

© 2026 Illumina, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

illumina®