# illumina

# iSeq 100

Veiledning for sekvenseringssystem



Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR April 2020 Kun til forskningsbruk. Ikke til bruk ved diagnostiske prosedyrer. ILLUMINA PROPRIETÆR

Dette dokumentet og dets innhold er opphavsrettslig beskyttet for Illumina, Inc. og tilknyttede selskaper («Illumina»), og er ment utelukkende for kontraktbruk av kunden i forbindelse med bruk av produktet (produktene) beskrevet her, og for intet annet formål. Dette dokumentet og dets innhold skal ikke brukes eller distribueres til andre formål og/eller på annen måte kommuniseres, fremlegges eller reproduseres på noen måte uten forutgående, skriftlig samtykke fra Illumina. Illumina overfører ikke noen lisens under sitt patent, varemerke, opphavsrett eller sedvanerett eller lignende rettigheter til tredjeparter gjennom dette dokumentet.

Instruksjonene i dette dokumentet skal følges strengt og tydelig av kvalifisert og tilfredsstillende utdannet personell for å sikre riktig og sikker bruk av produktet (produktene) som er beskrevet i dette dokumentet. Alt innhold i dette dokumentet skal leses fullt ut og være forstått før produktet (produktene) brukes.

HVIS DET UNNLATES Å LESE FULLSTENDIG OG UTTRYKKELIG FØLGE ALLE INSTRUKSJONENE I DETTE DOKUMENTET, KAN DET FØRE TIL SKADE PÅ PRODUKTET (PRODUKTENE), SKADE PÅ PERSONER, INKLUDERT BRUKERE ELLER ANDRE, OG SKADE PÅ ANNEN EIENDOM, OG DETTE VIL UGYLDIGGJØRE EVENTUELL GARANTI SOM GJELDER FOR PRODUKTET (PRODUKTENE).

ILLUMINA PÅTAR SEG IKKE ANSVAR SOM FØLGE AV FEIL BRUK AV PRODUKTET (PRODUKTENE) SOM ER BESKREVET I DETTE DOKUMENTET (INKLUDERT DELER AV DETTE ELLER PROGRAMVARE).

© 2020 Illumina, Inc. Med enerett.

Alle varemerker tilhører Illumina, Inc. eller deres respektive eiere. Ytterligere informasjon om varemerker finner du på www.illumina.com/company/legal.html.

# Revisjonslogg

Dokument	Dato	Beskrivelse av endring
Dokumentnr. 1000000036024 v07	April 2020	La til innhold og oppbevaringsinformasjon for åttepakning. Oppdaterte biblioteksvolumer og RSB-volumer i fortynningsintruksjoner.
Dokumentnr. 100000036024 v06	April 2020	<ul> <li>Oppdaterte programvarebeskrivelser i iSeq-kontrollprogramvare v2.0, som støtter iSeq 100 i1 reagens v2.</li> <li>Erstattet iSeq 100 i1 reagens med følgende sett:</li> <li>Illumina katalognr. 20031371 for iSeq 100 i1 reagens v2.</li> <li>Illumina katalognr. 20031374 for iSeq 100 i1 reagens v2, firepakning. La til informasjon om programvare- og reagenskompatibilitet.</li> <li>La til innlastingskonsentrasjoner for iSeq 100 i1 v2 Cartridge.</li> <li>La til fortynningsinstruksjoner for Nextera XT DNA-biblioteker.</li> <li>La til symbol som angir riktig oppbevaringsretning for kassetten.</li> <li>Økte maksimal tinetid for kassett ved 2 til 8 °C til 1 uke.</li> <li>Økte antall gangers bruk til 130 for testkomponenter til flergangsbruk.</li> <li>Oppdaterte PhiX anrikingsanbefaling til 10 % for biblioteker med lav diversitet.</li> <li>Oppdaterte grafikk til å vise iSeq 100 i1 v2 Cartridge.</li> <li>Oppdaterte grafikk til å vise iSeq 100 i1 v2 Cartridge.</li> <li>Oppdaterte instruksjoner for installering av programvareoppdateringer til å inkludere Registry Editor (Registerredigering).</li> <li>Oppdaterte informasjon om avansert bytte:</li> <li>La til et flytdiagram som viser prosessoversikten.</li> <li>Listet opp de nødvendige dokumentene for å fullføre returen.</li> <li>Tydeliggjorde hvordan henting planlegges.</li> <li>La til en merknad om at laboratorier med nivå 2 og 3 for biologisk sikkerhet kan kreve ytterligere dekontaminering.</li> <li>Flyttet passordkrav og Software Restriction Policies</li> <li>(Programvarebegrensningspolicyer) (SRP) til <i>veiledningen for klargjøring av sted for iSeq 100-sekvenseringssystemet (dokumentnr. 100000035337).</i></li> </ul>

Dokument	Dato	Beskrivelse av endring
Dokumentnr. 100000036024 v05	Mars 2019	<ul> <li>Oppdaterte programvarebeskrivelser i iSeq-kontrollprogramvare v1.4:</li> <li>Oppdaterte instruksjoner for konfigurasjon av systeminnstillinger, inkludert å flytte og gi enkelte brukergrensesnittelementer nytt navn.</li> <li>La til beskrivelser av metrikk for %Clusters PF (% klynge-PF) og %Occupancy (% fyllingsgrad), som finnes i skjermbildet Sequencing (Sekvensering).</li> <li>Tillot tilordnede nettverksstasjonsplasseringer for prøvearkene og utdatamappene.</li> <li>Anga at programvaren automatisk gir prøveark det nye navnet SampleSheet.csv.</li> <li>La til koblinger på følgende sider:</li> <li>iSeq 100-systemprøvearkmalen for manuell modus.</li> <li>Støttesidene for bcl2fastq-konverteringsprogramvare.</li> <li>La til volumer av 1 nM 100 % PhiX og AmpliSeq Library PLUS for Illumina- biblioteker for klargjøring.</li> <li>La til instruksjon om å flytte referansegenomdatabasen for Local Run Manager til en annen plassering enn stasjon C ved gjenoppretting av systemets fabrikkinnstillinger.</li> <li>Økte de maksimalt anbefalte syklusene for Index Read 1 (Indeksavlesning 1) og Index Read 2 (Indeksavlesning 2) til 10 sykluser hver.</li> <li>Økte antall sykluser som kassetten støtter til 322.</li> <li>Henviste til <i>Veiledning for klyngetetthetsoptimalisering (dokumentnr. 100000071511</i>) med tanke på detaljert informasjon om optimalisering av lastekonsentrasjon.</li> </ul>
Dokumentnr. 1000000036024 v05	Mars 2019	Klarla at før en kassett tines i et vannbad, må den oppbevares ved -25 °C til -15 °C i minst én dag. Korrigerte AmpliSeq for Illumina Library PLUS til AmpliSeq Library PLUS for Illumina.
Dokumentnr. 100000036024 v04	Oktober 2018	<ul> <li>Lagt til anbefalte lastekonsentrasjoner og fortynningsinstruksjoner for Nextera DNA Flex for Enrichment-, TruSeq DNA Nano- og TruSeq DNA PCR-Free-biblioteker.</li> <li>Lagt til informasjon om bruk av en normaliseringsmetode som ikke gir enkeltstrengede biblioteker.</li> <li>Lagt til beskrivelser av de to kjøringsmodusene, Local Run Manager og Manuell.</li> <li>Lagt til et 5 % PhiX-anrikingsalternativ og definert formålet med hver prosentandel for anriking.</li> <li>Lagt til sbsadmin-operativsystemkontoen når du installerer kontrollprogramvaren, analysemodulene og annen programvare.</li> <li>Slå av og på instrumentet når du skal gjenopprette til fabrikkinnstillinger.</li> <li>Referanse til <i>Illumina-adaptersekvenser (dokumentnr. 10000002694)</i> for å avgjøre Index 2 (Indeks 2) (i5)-retninger for et prøveark.</li> <li>Forklaringer av følgende punkter:</li> <li>Kassetter må brukes umiddelbart etter tining.</li> <li>Innlastingskonsentrasjonene oppført for Nextera DNA Flex- og Nextera Flex for Enrichment-biblioteker gjelder ikke for andre Nextera- bibliotekstyper.</li> <li>SureCell WTA 3' er ikke et kompatibelt bibliotek.</li> </ul>

Dokument	Dato	Beskrivelse av endring
Dokumentnr. 100000036024 v03	August 2018	<ul> <li>Oppdaterte programvarebeskrivelser i iSeq-kontrollprogramvare v1.3:</li> <li>La til konfigurasjonsinstruksjoner for Universal Copy Service.</li> <li>Endret navnet på fanen Network Configuration (Nettverkskonfigurasjon) til Network Access (Nettverkstilgang).</li> <li>La til instruksjoner om åpning av Local Run Manager fra kontrollprogramvaren.</li> <li>Oppdaterte standardplassering for utdatamappe til D:\SequencingRuns.</li> <li>La til instruksjoner om tilkobling av systemet til en proxy-server.</li> <li>La til krav om å angi en UNC-bane for utdatamappe- og prøvearkplasseringene i nettverket.</li> <li>Anga de unike kravene for konfigurasjon av en utdatamappeplassering på en intern stasjon, ekstern stasjon eller nettverksplassering.</li> <li>Laget instruksjoner om å opprette et prøveark for manuell modus i første trinn av kjøringsoppsett.</li> <li>Korrigerte instruksjoner og bruk av installasjonsveiviseren for systemserien.</li> <li>Korrigerte beskrivelsen av utdataminiatyrfiler.</li> </ul>
Dokumentnr. 1000000036024 v02	Juni 2018	Oppdaterte rør brukt for fortynning av biblioteker til Fisher Scientific katalognr. 14222158 eller tilsvarende rør med lav binding. La til en del som beskriver den regionale tilgjengeligheten for avansert bytte. Klarla at biblioteker fortynnet til lastekonsentrasjonen må sekvenseres samme dag. Klarla at reagenskassetten må tas ut av esken for tining.

# Innholdsfortegnelse

Kapittel 1 Oversikt	1
Innledning	1
Tilleggsressurser	
Instrumentkomponenter	
iSeq 100 i1-reagens	
Kapittel 2 Komme i gang	11
Førstegangs oppsett	
Minimere kontrollorogramvaren	
Kiøringsingstillinger	11
Instrumenttilnasning	14
Nettverksonpsett	16
Brukerlevert forbruksmateriell og utstyr	
Kanittel 3 Selvensering	20
Tine kassetten i nese	
Klargigre strømningscellen og bibliotekene	
Laste forbruksmateriell inn i kassetten	22. 24
Konfigurere en sekvenseringskjøring (Local Run Manager)	26
Konfigurere en sekvenseringskjøring (Eocar Hun Mahager)	
Kapittel 4 Vedlikehold	
Frigjøre plass på harddisken	
Programvareoppdateringer	
Skifte ut luftfilteret	
Flytte instrumentet	
Vedlegg A Utdata for sekvensering	
Oversikt over sanntidsanalyse	
Arbeidsprosess for sanntidsanalyse	
Vedleaa B Feilsøking	45
Løse feilmeldinger	45
Avbryte en startet kiøring	46
Foreta en strømtilstandsendring for instrumentet	
Utføre en systemkontroll	47
Lekkasiebearensning	
Gjenopprette til fabrikkinnstillinger	
Vedlegg C Avansert bytte	53
Innledning	53

Motta et erstatningssystem	
Klargjøre det originale systemet for retur	
Returnere det originale systemet	
Indeks	60
Teknisk hielp	66

# Kapittel 1 Oversikt

Innledning	. 1
Tilleggsressurser	2
Instrumentkomponenter	. 3
iSeq 100 i1-reagens	7

## Innledning

Illumina<sup>®</sup> iSeq<sup>™</sup> 100-sekvenseringssystem sørger for en målrettet tilnærming til neste generasjons sekvensering (NGS). Dette programfokuserte systemet pakker Illumina-sekvenseringsteknologi inn i et kostnadseffektivt skrivebordsinstrument.

## Funksjoner

- Accessibility and reliability (Tilgjengelighet og pålitelighet) iSeq 100-systemet har en liten grunnflate og er enkelt å installere og bruke. Væske- og avbildningskomponenter er innebygd i forbruksmateriellet, noe som gjør det enklere å vedlikeholde instrumentet.
- Single-step consumable loading (Ettrinns innlasting av forbruksmateriell) En kassett til engangsbruk er forhåndsfylt med alle reagenser som kreves for en kjøring. Bibliotek og en strømningscelle utstyrt med sensor lastes direkte inn i kassetten, som deretter lastes inn i instrumentet. Integrert identifisering muliggjør nøyaktig sporing.
- iSeq 100-systemprogramvare En serie med integrert programvare styrer instrumentoperasjoner, behandler bilder og genererer baseberegninger. Denne serien sørger for dataanalyse på instrumentet og dataoverføringsverktøy for ekstern analyse.
  - On-instrument analysis (Analyse på instrumentet) Local Run Manager legger inn prøveinformasjon og analyserer deretter kjøringsdata med analysemodulen som er spesifisert for kjøringen. Programvaren inkluderer en serie av analysemoduler.
  - Cloud-based analysis (Skybasert analyse) Arbeidsflyten for sekvensering er integrert med BaseSpace Sequence Hub, Illumina-skyberegningsmiljøet for kjøringsovervåking, dataanalyse, lagring og samarbeid. Utdatafiler strømmes i sanntid til BaseSpace Sequence Hub for analyse.

#### Prøve til analyse

Følgende diagram illustrerer hele arbeidsflyten for sekvensering fra eksperimentell utforming til analyse av data. Hvert trinn omfatter verktøy og dokumentasjon. Denne veiledningen dekker trinnet for å sekvensere biblioteker. Du finner annen dokumentasjon på support.illumina.com.

Figur 1 Arbeidsprosess for prøve til analyse Designanalyse (valgfritt) Opprett tilpassede, målrettede paneler for støttede bibliotektyper. Verktøy: DesignStudio-programvare Dokumentasjon: elektronisk hjelp for DesignStudio Oppgi prøveinformasjon Fyll ut en prøvetabell, velg indekser og konfigurer sekvenseringskjøringen. Verktøy: Local Run Manager-programvare Dokumentasjon: Veiledning for Local Run Manager-programvare Klargjøre biblioteker Klargjør sekvensklare biblioteker fra inndata-DNA eller -RNA. Verktøy: bibliotekklargjøringssett Dokumentasjon: referanseveiledningen for bibliotekklargjøringssettet og Sammenslåingsveiledning for indeksadapter Sekvensbiblioteker Fortynn biblioteker, klargjør forbruksmateriell for sekvensering, og utfør en kjøring. Verktøy: iSeg 100-system og iSeg 100 i1-reagenser Dokumentasjon: denne systemveiledningen Analyser data Analyser sekvenseringsutdata lokalt eller i skyen. Verktøy: Local Run Manager (lokal programvare) eller BaseSpace Sequence Hub (skybasert programvare) Dokumentasjon: Veiledning for Local Run Manager-programvare eller Elektronisk hjelp for BaseSpace Sequence Hub

#### Tilleggsressurser

Støttesidene til iSeq 100 sekvenseringssystem på Illuminas nettsted har tilleggsressurser for systemet. Disse ressursene inkluderer programvare, opplæring, kompatible produkter og følgende dokumentasjon. Sjekk alltid støttesider for de nyeste versjonene.

Ressurs	Beskrivelse
Tilpasset protokollvelger	Et verktøy for å generere ende-til-ende-instruksjoner skreddersydd til din metode for bibliotekklargjøring, kjøringsparametere og analysemetode, med muligheter for å finjustere detaljnivået.
Oppsettplakat for iSeq 100- sekvenseringssystem (dokumentnr. 1000000035963)	Gir instruksjoner for installasjon av instrument og førstegangsoppsett.
Veiledning for klargjøring av stedet for iSeq 100-sekvenseringssystem (dokumentnr. 1000000035337)	Gir spesifikasjoner for laboratorieplass, elektriske krav og miljømessige og nettverksmessige hensyn.
Sikkerhets- og samsvarsveiledning for iSeq 100-sekvenseringssystem (dokumentnr. 1000000035336)	Gir informasjon om operative sikkerhetshensyn, samsvarserklæringer og instrumentdokumentasjon.
Samsvarsveiledning for RFID-leser (dokumentnr. 1000000002699)	Gir informasjon om RFID-leseren i instrumentet, inkludert samsvarssertifiseringer og sikkerhetshensyn.

#### Instrumentkomponenter

iSeq 100-sekvenseringssystemet omfatter en av/på-knapp, monitor, statuslinje, et forbruksmateriellkammer og et dryppbrett.

Figur 2 Eksterne systemkomponenter



- A Av/på-knapp Styrer strømmen til instrumentet og angir om systemet er på (lyser), av (mørk) eller av, men med vekselstrøm (pulserer).
- B Berøringsskjermmonitor Gjør konfigurasjon og oppsett mulig på instrumentet ved hjelp av kontrollprogramvarens grensesnitt.
- C Statuslinje Angir systemstatus som klar til å sekvensere (grønn), behandler (blå) eller krever oppmerksomhet (oransje).
- D Forbruksmateriellkammer Inneholder forbruksmateriell under en kjøring.
- E Dryppbrettdør Gir tilgang til dryppbrettet, som fanger opp lekkede væsker.

#### Strøm- og hjelpetilkoblinger

Du kan flytte instrumentet for å få tilgang til USB-porter og andre komponenter på baksiden.

Bak på instrumentet er det en bryter og et inntak som styrer strøm til instrumentet, samt en Ethernet-port for en valgfri Ethernet-tilkobling. To USB-porter gjør det mulig å koble til en mus eller et tastatur, eller å laste opp og laste ned data med en bærbar enhet.



#### MERK

Hvis du kobler systemet til et tastatur og en mus, overstyres tastaturet på skjermen.



- A Ethernet-port Valgfri tilkobling av Ethernet-kabel.
- B USB-porter To porter for tilkobling av hjelpekomponenter.
- C Vekslebryter Slår strømmen til instrumentet på og av.
- D Vekselstrøminntak Tilkobling av strømledning.

#### Forbruksmateriellkammer

Forbruksmateriellkammeret inneholder kassetten for en sekvenseringskjøring.



Figur 4 Lastet forbruksmateriellkammer

- A Kassett Inneholder strømningscellen, biblioteket og reagensene, og samler opp brukte reagenser under kjøringen.
- B Brett Rommer kassetten under sekvensering.
- C Dør Åpner seg i 60-graders vinkel slik at du får tilgang til forbruksmateriellkammeret.

Programvaren åpner og lukker kammerdøren, og posisjonerer kassetten for avbildning. Døren åpnes ned fra hengsler mot instrumentets sokkel. Ikke sett gjenstander på den åpne døren, da den ikke er laget for å fungere som en hylle.

## Teststrømningscelle og kassett til flergangsbruk

Instrumentet leveres med iSeq 100-teststrømningscellen til flergangsbruk og iSeq 100-testkassetten til flergangsbruk, som skal brukes til systemkontroller. Oppbevares i originalemballasjen ved romtemperatur og kan brukes opptil 130 ganger. Under en systemkontroll viser programvaren resterende antall bruk.

Figur 5 Testkomponenter til flergangsbruk



- A Teststrømningscelle til flergangsbruk
- B Testkassett til flergangsbruk

Testkomponentene til flergangsbruk ligner på sekvenseringskomponentene i iSeq 100 i1 reagens v2, og innlastingsretningene er de samme. Testkassetten har imidlertid ikke en bibliotekbeholder, og ingen av testkomponentene har kjemien som kreves for en kjøring.

Testkomponentene til flergangsbruk har utløpsdato 5 år etter produksjonsdatoen. Erstatt testkomponenter til flergangsbruk som er utløpt eller har nådd maksimalt antall bruk med testsettet for iSeq 100.

#### Systemprogramvare

Systemprogramvareserien innbefatter integrerte programmer som utfører sekvenseringskjøringer og analyse på instrumentet.

- iSeq-kontrollprogramvare Styrer instrumentoperasjoner og gir et grensesnitt for konfigurasjon av systemet, oppsett av en sekvenseringskjøring og overvåking av kjøringsstatistikk etter hvert som sekvensering går fremover.
- Local Run Manager Definerer kjøringsparametere og analysemetoden før sekvensering. Etter sekvensering begynner dataanalyse på instrumentet automatisk.
  - Systemet leveres med DNA Amplicon, RNA Amplicon og Generate FASTQ samt analysemoduler installert.
  - Systemet støtter også analysemodulene for anriking og sekvensering av DNA på nytt, som er tilgjengelige på støttesidene for Local Run Manager.
  - ▶ Du finner mer informasjon om Local Run Manager og analysemodulene i Veiledning for Local Run Manager-programvare (dokumentnr. 100000002702).
- Sanntidsanalyse (RTA2) Utfører bildeanalyse og basebetegnelse under kjøringen. Du finner mer informasjon under Utdata for sekvensering på side 39.
- Universal Copy Service Kopierer utdatafiler for sekvensering fra kjøringsmappen til BaseSpace Sequence Hub (hvis det er aktuelt) og utdatamappen, hvor du kan oppnå tilgang til dem.

Sanntidsanalyse og Universal Copy Service kjører kun bakgrunnsprosesser. Local Run Manager og kontrollprogramvaren kan ha behov for brukerinndata.

## Systeminformasjon

Kontrollprogramvaremenyen har en del som heter About (Om), hvor du kan vise Illumina-kontaktinformasjon og følgende systeminformasjon:

- Serienummer
- Datamaskinens navn og IP-adresse
- Oppskriftsfragmentversjon
- Kjøringsantall

#### Meldinger og varsler

Et ikon vises ved siden av instrumentnavnet for å angi meldinger. Hvis du vil vise en liste over meldingene, som omfatter advarsler og feil, velger du ikonet.

- Advarsler krever oppmerksomhet, men verken stopper en kjøring eller krever annen handling enn kvittering.
- Feil krever handling før du kan starte eller fortsette med en kjøring.

Et panel på venstre side av skjermbildene for kjøringsoppsett viser varsler som gjelder spesielt for kassettinnlasting og kontroller før kjøring.

Figur 6 Plasseringer i skjermbildet



- A Varsler for kjøringsoppsett
- B Andre meldinger

## Prosessbehandling

Skjermbildet Process Management (Prosessbehandling) viser ledig plass (stasjon D) på harddisken og kjøringsstatus, og identifiserer hver kjøring med navn, ID og dato. Skjermbildet oppdateres automatisk hvert tredje minutt.

Kolonnen Status angir om en kjøring pågår eller er fullført basert på behandlingen av BCL-filer. For hver kjøring viser Process Management (Prosessbehandling) dessuten statusen for bakgrunnsprosessene Universal Copy Service, BaseSpace Sequence Hub og Local Run Manager.

Uaktuelle prosesser vises ikke på skjermen. Hvis for eksempel en kjøring ikke er koblet til BaseSpace Sequence Hub, viser ikke Process Management (Prosessbehandling) BaseSpace-statusen for denne kjøringen.

Du finner informasjon om hvordan du feilsøker statusproblemer under Status for prosessbehandling på side 45. Informasjon om hvordan du sletter kjøringer og frigjør plass finnes i Frigjøre plass på harddisken på side 33.

### Status for Universal Copy Service

Universal Copy Service viser statusen for filer som blir kopiert fra utdatamappen:

- ▶ In Progress (Pågår) Universal Copy Service kopierer filer til utdatamappen.
- **Complete** (Fullført) Universal Copy Service har kopiert alle filene til utdatamappen.

#### Status for BaseSpace Sequence Hub

BaseSpace Sequence Hub viser opplastingsstatusen:

- ▶ In Progress (Pågår) Kontrollprogramvaren laster opp filer til BaseSpace Sequence Hub.
- ▶ Complete (Fullført) Alle filene er lastet opp til BaseSpace Sequence Hub.

#### Status for Local Run Manager

Local Run Manager viser analysestatusen i kontrollprogramvare:

- Not Started (Ikke startet) Analysen står i kø for å starte, eller Local Run Manager venter på at sanntidsanalyse skal fullføres.
- In Progress (Pågår) Local Run Manager analyserer filer. Du finner en mer detaljert status i Local Run Manager-programvaren.
- Stopped (Stoppet) Analysen har stoppet, men er ikke fullført.
- Complete (Fullført) Local Run Manager har fullført analysen.

Du finner mer informasjon om analysestatus i Local Run Manager-programvaren.

#### iSeq 100 i1-reagens

Å utføre en kjøring på iSeq 100-systemet krever iSeq 100 i1 reagens v2, et reagenssett til engangsbruk. Settet er tilgjengelig i én størrelse (300 sykluser) og tre samlinger:

- Enkel Inneholder forbruksmateriell til én kjøring.
- Firepakning Inneholder forbruksmateriell til fire kjøringer.
- Attepakning Inneholder forbruksmateriell til åtte kjøringer.

#### Innhold og oppbevaring

iSeq 100 i1-reagens v2 inneholder kassetten og strømningscellen for sekvensering.

Samling	Antall	Komponent	Oppbevaringstemperatur
Enkel	1	Kassett	–25 °C til –15 °C
_	1	Strømningscelle	2 °C til 8 °C*
Firepakning	4	Kassett	–25 °C til –15 °C
_	4	Strømningscelle	2 °C til 8 °C*
Åttepakning	8	Kassett	–25 °C til –15 °C
_	8	Strømningscelle	2 °C til 8 °C*

\*Sendes ved romtemperatur.

Når du mottar iSeq 100 i1 reagens v2, skal komponentene umiddelbart oppbevares under riktige forhold for å sikre riktig ytelse:

- > Oppbevares ved angitte temperaturer.
- Den hvite foliepakningen skal ikke åpnes før du får instruksjon om det. Kassetten skal tines i posen.
- Plasser kassetten slik at etiketten på emballasjen vender oppover.
- > Oppbevar kassetten i minst én dag før du tiner den i et vannbad.

#### Strømningscelle

iSeq 100 i1-strømningscellen er en mønstret strømningscelle med én bane som er bygget over en optisk sensor av typen komplementær metalloksidhalvleder (CMOS). En plastkassett omgir den glassbaserte strømningscellen. Opphevede gripepunkter på plasten sikrer trygg håndtering.



- A Gripepunkter
- B CMOS-sensor (oppå)
- C Avbildningsområde
- D Pakning (én av to)
- E CMOS-sensor (under)
- F Elektrisk grensesnitt

Millioner av nanobrønner dekker overflaten av strømningscellen. Klynger genereres i nanobrønnene. Derfra utføres deretter sekvenseringsreaksjonen. Nanobrønnenes ordnede fordeling øker utdataavlesninger og data. Under sekvensering tar CMOS-sensoren bilder for analyse.

Strømningscellen bruker et elektrisk grensesnitt for sporing og kompatibilitet: elektrisk slettbart, programmerbart skrivebeskyttet minne (EEPROM).

#### Kassett

iSeq 100 i1-kassetten er forhåndsfylt med klynge-, sekvenserings-, paired-end- og indekseringsreagenser. En folieforseglet beholder er forbeholdt biblioteker, og et spor på forsiden er forbeholdt strømningscellen. Illuminatorlys når strømningscellen gjennom et tilgangsvindu oppå kassetten.



- A Tilgangsvindu
- B Strømningscellespor
- C Bibliotekbeholder

Kassetten rommer alt forbruksmateriell for en kjøring: reagenser, bibliotek og strømningscelle. Biblioteket og strømningscellen lastes inn i den tinte kassetten, som deretter lastes på instrumentet. RFID (radiofrekvensidentifikasjon) sikrer kompatibilitet og sporing.

Etter at kjøringen har begynt, overføres reagenser og bibliotek automatisk fra kassetten til strømningscellen. En beholder på undersiden samler opp brukte reagenser. Kassetten inneholder også pumper, ventiler og alle andre væsker for systemet. Fordi kassetten avhendes etter en kjøring, er det ikke nødvendig å vaske instrumentet.

#### Programvarekompatibilitet

Før du tiner reagenser og konfigurerer en kjøring, må du kontrollere at systemet er oppgradert til programvareversjonen som er kompatibel med settet du har. Du finner oppgraderingsinstruksjoner under *Programvareoppdateringer* på side 33.

Sett	Kompatibel programvare
iSeq 100 i1-reagens v2	iSeq kontrollprogramvare v2.0, eller nyere
iSeq 100 i1-reagens (v1)	iSeq kontrollprogramvare v1.2, eller nyere

#### Antall sykluser som støttes

Etiketten for 300 sykluser på kassetten angir hvor mange sykluser som analyseres, ikke hvor mange sykluser som utføres. Kassetten sørger dermed for tilstrekkelig reagenser for opptil 322 sekvenseringssykluser.

De 322 syklusene inkluderer 151 sykluser hver for Read 1 (Avlesning 1) og Read 2 (Avlesning 2), pluss opptil 10 sykluser hver for Index 1 (Indeks 1) og Index 2 (Indeks 2). Du finner informasjon om hvor mange sykluser som skal sekvenseres, under *Anbefalt antall sykluser* på side 21.

Strømningscellen er kompatibel med hvilket som helst antall sykluser og hvilken som helst avlesningstype.

## Symbolbeskrivelser

Følgende tabell beskriver symbolene på forbruksmateriellet eller forbruksmateriellets emballasje.

Symbol	Beskrivelse
<u><b>11</b></u>	Angir hvilken side som skal være vendt opp under oppbevaring.
	Dato da forbruksmateriellet utløper. De beste resultatene oppnås ved å bruke forbruksmateriellet før denne datoen.
	Angir produsenten (Illumina).
$\sim$	Datoen da forbruksmateriellet ble fremstilt.
RUO	Tiltenkt bruk er Kun til forskningsbruk (RUO).
REF	Angir delenummeret slik at forbruksmateriellet kan identifiseres.*
LOT	Angir partikoden for å identifisere partiet eller loten som forbruksmateriellet ble fremstilt i.*
$\triangle$	Angir at du må være forsiktig.
	Angir en helsefare.
	Temperaturområde for oppbevaring i grader celsius. Oppbevar forbruksmateriellet innenfor det angitte området.

\* REF identifiserer den enkeltstående komponenten, mens LOT identifiserer loten eller partiet komponenten tilhører.

# Kapittel 2 Komme i gang

Førstegangs oppsett	11
Vinimere kontrollprogramvaren	11
Kjøringsinnstillinger	. 11
nstrumenttilpasning	14
Nettverksoppsett	16
Brukerlevert forbruksmateriell og utstyr	17

#### Førstegangs oppsett

Den første gangen systemet slås på, starter kontrollprogramvaren med en serie skjermbilder som leder deg gjennom førstegangs oppsett. Førstegangs oppsett omfatter å utføre en systemkontroll for å bekrefte instrumentytelse og konfigurere systeminnstillinger.

Hvis du vil endre systeminnstillinger etter førstegangs oppsett, velger du kommandoen System Settings (Systeminnstillinger) i kontrollprogramvaren. Kommandoen åpner fanene Settings (Innstillinger), Network Access (Nettverkstilgang) og Customization (Tilpasning), der du kan oppnå tilgang til alle kontrollprogramvareinnstillinger og Windows-innstillinger for nettverk.

## Operativsystemkonti

Windows-operativsystemet har to konti: administrator (sbsadmin) og bruker (sbsbruker). Operativsystemet krever at passordet endres for begge kontoer ved første pålogging.

Administrator-kontoen skal brukes til IT, systemoppdateringer og installering av kontrollprogramvare, Local Run Manager-analysemoduler og annen programvare. Utfør alle andre funksjoner, deriblant sekvensering, fra brukerkontoen.

#### Valideringskjøringer

Du kan eventuelt utføre en valideringskjøring før du sekvenserer eksperimentelle biblioteker for første gang. En valideringskjøring sekvenserer 100 % PhiX, som fungerer som et kontrollbibliotek, for å bekrefte systemdriften. Du finner instruksjoner under *Sekvensering* på side 20.

#### Minimere kontrollprogramvaren

Oppnå tilgang til andre programmer ved å minimere kontrollprogramvaren. Du kan for eksempel bla til utdatamappen i Filutforsker, eller finne et prøveark.

- 1 Åpne Windows-oppgavelinjen ved å sveipe oppover på berøringsskjermen.
- 2 Velg ikonet **iSeq 100 System** (iSeq 100-system) eller et annet program. Kontrollprogramvaren minimeres.
- 3 [Valgfritt] Navigering og skriving utenfor kontrollprogramvaren blir enklere hvis du kobler et tastatur og en mus til instrumentet.
- 4 Sveip og velg **iSeq 100 System** (iSeq 100-system) når du vil maksimere kontrollprogramvaren.

## Kjøringsinnstillinger

Konfigurer alternativer for kjøringsoppsett, kjøringsovervåking og dataanalyse i fanen Settings (Innstillinger) i System Settings (Systeminnstillinger). Denne fanen viser anbefalte hurtiginnstillinger som du kan bruke ved å velge alternativet for hurtigoppsett. Alternativt tilpasser du innstillingene ved å velge alternativet for manuelt

#### oppsett.

Hvis du velger hurtiginnstillinger, brukes følgende innstillinger, og InterOp-filer, loggfiler, instrumentytelsesdata og kjøringsdata sendes til BaseSpace Sequence Hub:

- Illumina Proactive Support (Illumina proaktiv støtte) Forenkler feilsøking og påviser potensielle feil, slik at proaktivt vedlikehold kan utføres og instrumentets driftstid maksimeres. Hvis Illumina proaktiv støtte slås på, sendes instrumentytelsesdata (ikke sekvenseringsdata) til BaseSpace Sequence Hub. Du finner mer informasjon i Illumina proaktiv teknisk merknad (dokumentnr. 100000052503).
- Local Run Manager Bruk Local Run Manager-programvaren til å opprette kjøringer og analyser kjøringsdata for en enkel, strømlinjeformet arbeidsflyt. Det er ikke nødvendig med egne prøveark og analyseprogrammer.
- Remote Run Monitoring (Fjernkjøringsovervåking) Bruk BaseSpace Sequence Hub til fjernkjøringsovervåking.
- Run Analysis, Collaboration, and Storage (Kjøringsanalyse, samarbeid og lagring) Bruk BaseSpace Sequence Hub til å lagre og analysere kjøringsdata og samarbeide med kolleger.



Local Run Manager starter automatisk analyse når kjøringen er fullført. Du kan imidlertid også analysere data i BaseSpace Sequence Hub.

#### Bruke hurtiginnstillinger

Hurtigoppsett erstatter de aktuelle kjøringsinnstillingene med anbefalte kjøringsinnstillinger og lokaliserte innstillinger for BaseSpace Sequence Hub. Disse innstillingene krever en Internett-tilkobling og en BaseSpace Sequence Hub-konto. Instruksjoner for kontooppsett finnes i *Elektronisk hjelp for BaseSpace Sequence Hub (dokumentnr. 100000009008)*.

- 1 I kontrollprogramvaremenyen velger du System Settings (Systeminnstillinger).
- 2 I fanen Settings (Innstillinger) velger du Use Express Settings (Bruk hurtiginnstillinger).
- I listen Set Region (Angi region) velger du den geografiske plasseringen der systemet befinner seg eller stedet nærmest der systemet befinner seg.
   Denne innstillingen sikrer at dataene lagres på riktig plassering for BaseSpace Sequence Hub.
- 4 Hvis du har et Enterprise-abonnement, legger du inn domenenavnet (URL-adressen) i feltet Enter Private Domain (Legg inn privat domene), som brukes til enkeltpålogging i BaseSpace Sequence Hub. For eksempel: https://yourlab.basespace.illumina.com.
- 5 Velg Next (Neste).
- 6 Gå gjennom innstillingene. Slik endrer du en innstilling:
  - a Åpne innstillingen ved å velge Edit (Rediger).
  - b Endre innstillingen etter behov, og velg deretter Next (Neste).
  - c Fortsett gjennom eventuelle påfølgende skjermbilder ved å velge Next (Neste).

I skjermbildet Settings Review (Innstillingsgjennomgang) angir en grønn hake aktiverte innstillinger.

- 7 Velg Save (Lagre).
- 8 Lukk System Settings (Systeminnstillinger) ved å velge Exit (Avslutt).

Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR

## Konfigurere innstillinger manuelt

Manuelt oppsett leder deg gjennom hvert skjermbilde i fanen Settings (Innstillinger), slik at du kan konfigurere kjøringsinnstillinger som har følgende krav:

- Å slå på Illumina proaktiv støtte og BaseSpace Sequence Hub krever en Internett-tilkobling. BaseSpace Sequence Hub krever dessuten en konto. Instruksjoner for kontooppsett finnes i *Elektronisk hjelp for BaseSpace Sequence Hub (dokumentnr. 100000009008).*
- Å bruke BaseSpace Sequence Hub til dataanalyse når systemet er konfigurert for manuell modus, krever et prøveark. Du finner nærmere detaljer under Krav til prøveark på side 14.
- 1 I kontrollprogramvaremenyen velger du System Settings (Systeminnstillinger).
- 2 Velg Set Up Manually (Konfigurer manuelt).
- 3 Velg om du vil aktivere tjenesten Illumina proaktiv støtte:
  - Slå den på ved å velge avmerkingsboksen Turn on Illumina Proactive Support (Slå på Illumina proaktiv støtte).
  - Slå den av ved å velge bort avmerkingsboksen Turn on Illumina Proactive Support (Slå på Illumina proaktiv støtte).

Tjenesten sender instrumentytelsesdata, som temperatur og kjøringstid, til Illumina. Disse dataene hjelper Illumina med å påvise potensielle feil og forenkler feilsøking. Kjøringsdata sendes ikke. Du finner mer informasjon i *Illumina proaktiv teknisk merknad (dokumentnr. 100000052503)*.

- 4 Velg Next (Neste).
- 5 Velg om kjøringer skal kobles til BaseSpace Sequence Hub:
  - Kjøringer kobles til ved å velge én av følgende avmerkingsbokser:
    - Turn on run monitoring from anywhere only (Slå kun på overvåking fra hvor som helst) Bruk BaseSpace Sequence Hub til fjernovervåking.
    - ▶ Turn on run analysis, collaboration, and storage also (Slå også på kjøringsanalyse, samarbeid og lagring) Bruk BaseSpace Sequence Hub til fjernovervåking og analyse.
  - Koble fra kjøringer ved å velge bort avmerkingsboksene Turn on run monitoring from anywhere only (Slå kun på overvåking fra hvor som helst) og Turn on run analysis, collaboration, and storage also (Slå også på kjøringsanalyse, samarbeid og lagring).

Ved tilkobling sender kontrollprogramvaren InterOp- og loggfiler til BaseSpace Sequence Hub. Alternativet kjøringsanalyse, samarbeid og lagring sender også kjøringsdata.

- I listen Set Region (Angi region) velger du den geografiske plasseringen der systemet befinner seg eller stedet nærmest der systemet befinner seg.
   Denne innstillingen sikrer at dataene lagres på riktig plassering for BaseSpace Sequence Hub.
- 7 Hvis du har et Enterprise-abonnement, legger du inn domenenavnet (URL-adressen) i feltet Enter Private Domain (Legg inn privat domene), som brukes til enkeltpålogging i BaseSpace Sequence Hub. For eksempel: https://yourlab.basespace.illumina.com.
- 8 Velg Next (Neste).

- 9 Velg om kontrollprogramvaren skal integreres med Local Run Manager:
  - Hvis du vil opprette kjøringer og analysere data i Local Run Manager, velger du Use Local Run Manager (Bruk Local Run Manager).
  - Hvis du vil opprette kjøringer i kontrollprogramvaren og analysere data i et annet program, velger du Use Manual Mode (Bruk manuell modus).

Local Run Manager gir den mest strømlinjeformede arbeidsflyten, men er ikke en funksjon i kontrollprogramvaren. Den er integrert programvare som brukes til å registrere prøver for sekvensering, opprette kjøringer og analysere data. Før sekvensering går du gjennom *Veiledning for Local Run Manager-programvare (dokumentnr. 100000002702)*.

- 10 Velg Next (Neste).
- 11 Gå gjennom innstillingene. Slik endrer du en innstilling:
  - a Åpne innstillingen ved å velge Edit (Rediger).
  - b Endre innstillingen etter behov, og velg deretter Next (Neste).
  - c Fortsett gjennom eventuelle påfølgende skjermbilder ved å velge Next (Neste).

I skjermbildet Settings Review (Innstillingsgjennomgang) angir en grønn hake aktiverte innstillinger.

- 12 Velg Save (Lagre).
- 13 Lukk System Settings (Systeminnstillinger) ved å velge Exit (Avslutt).

#### Krav til prøveark

Når systemet er konfigurert for manuell modus og du analyserer data i BaseSpace Sequence Hub, krever hver kjøring et prøveark. Opprett et prøveark ved å redigere *iSeq 100-systemprøvearkmal for manuell modus* og deretter importere det inn i kontrollprogramvaren under kjøringsoppsett. Etter import gir programvaren automatisk prøvearket det nye navnet SampleSheet.csv.

Last ned prøvearkmalen fra støttesidene for iSeq 100-sekvenseringssystemet: iSeq 100-systemprøvearkmal for manuell modus.



#### FORSIKTIG

Legg inn adaptersekvensene for Index 2 (Indeks 2) (i5) i riktig retning for iSeq 100-sekvenseringssystemet. Du finner informasjon om indeksretninger i *Illumina-adaptersekvenser (dokumentnr. 100000002694*).

Det kreves også et prøveark når systemet er konfigurert for Local Run Manager-modus. Local Run Manager oppretter imidlertid prøvearket for deg og lagrer det til riktig plassering. Under alle andre forhold er et prøveark valgfritt.

#### Instrumenttilpasning

Navngi instrumentet ditt, og konfigurer innstillinger for lyd, miniatyrbilder og programvareoppdateringer under fanen Customization (Tilpasning) i System Settings (Systeminnstillinger).

#### Navngi instrumentet

- 1 I kontrollprogramvaremenyen velger du System Settings (Systeminnstillinger).
- 2 Velg fanen Customization (Tilpasning).
- 3 I feltet Instrument Nickname (Instrumentets kallenavn) oppgir du et foretrukket navn for instrumentet. Navnet vises øverst i hvert skjermbilde.

- 4 Velg Save (Lagre).
- 5 Lukk System Settings (Systeminnstillinger) ved å velge Exit (Avslutt).

## Slå lyd på eller av

- 1 I kontrollprogramvaremenyen velger du System Settings (Systeminnstillinger).
- 2 Velg fanen Customization (Tilpasning).
- 3 Velg om systemets lyd skal dempes:
  - Slå lyden av ved å velge Off (Av).
  - Slå lyden på ved å velge **On** (På).
- 4 Velg Save (Lagre).
- 5 Lukk System Settings (Systeminnstillinger) ved å velge Exit (Avslutt).

## Lagre miniatyrbilder

- 1 I kontrollprogramvaremenyen velger du System Settings (Systeminnstillinger).
- 2 Velg fanen Customization (Tilpasning).
- 3 Velg hvordan du vil lagre miniatyrbilder:
  - Hvis du vil lagre alle miniatyrbilder, velger du avmerkingsboksen Save all thumbnail images (Lagre alle miniatyrbilder).
  - Hvis du ikke vil lagre noen miniatyrbilder, velger du bort avmerkingsboksen Save all thumbnail images (Lagre alle miniatyrbilder).

Å lagre miniatyrbilder hjelper under feilsøking, men øker kjøringsstørrelsen en anelse. Alle miniatyrbilder lagres som standard.

- 4 Velg Save (Lagre).
- 5 Lukk System Settings (Systeminnstillinger) ved å velge Exit (Avslutt).

#### Konfigurere programvareoppdateringer

Systemet kan se etter og laste ned programvareoppdateringer automatisk som du kan installere, eller du kan se etter dem manuelt. Du finner mer informasjon under *Programvareoppdateringer* på side 33.

- 1 I kontrollprogramvaremenyen velger du System Settings (Systeminnstillinger).
- 2 Velg fanen Customization (Tilpasning).
- 3 Velg om systemet skal se etter programvareoppdateringer automatisk:
  - Vil du se automatisk, velger du avmerkingsboksen Autocheck for software updates (Se etter programvareoppdateringer automatisk).
  - Vil du se manuelt, velger du bort avmerkingsboksen Autocheck for software updates (Se etter programvareoppdateringer automatisk).

Det kreves en Internett-forbindelse for å se etter oppdateringer automatisk.

- 4 Velg Save (Lagre).
- 5 Lukk System Settings (Systeminnstillinger) ved å velge Exit (Avslutt).

#### Nettverksoppsett

Bruk av systemet og overføring av data krever kun en WiFi- eller Ethernet-tilkobling med standardinnstillingene for nettverk. Det er ikke nødvendig å oppdatere disse innstillingene med mindre organisasjonen har egendefinerte nettverkskrav. Hvis den har det, ber du IT-representanten om hjelp til å endre standardinnstillingene for nettverk.

*Veiledning for klargjøring av stedet for iSeq 100-sekvenseringssystem (dokumentnr. 100000035337)* inneholder retningslinjer for nettverksinnstillinger og kontrolldatamaskinsikkerhet.

#### Angi utdatamappens plassering

Universal Copy Service kopierer utdatafiler for sekvensering fra kjøringsmappen til BaseSpace Sequence Hub (når det er aktuelt) og utdatamappen, hvor du kan oppnå tilgang til dem.

En utdatamappe kreves med mindre systemet er konfigurert for kjøringsovervåking, kjøringsanalyse, samarbeid og lagring med BaseSpace Sequence Hub. Hvis ikke en utdatamappe er angitt, kopierer Universal Copy Service filer til D:\SequencingRuns.

- 1 I kontrollprogramvaremenyen velger du System Settings (Systeminnstillinger).
- 2 Velg fanen Network Access (Nettverkstilgang).
- 3 I feltet Output Folder (Utdatamappe) legger du inn en standardplassering eller velger **Browse** (Bla gjennom) hvis du vil navigere til en plassering.
  - Internal drive (Intern stasjon) Legg inn en eksisterende plassering på stasjon D. Stasjon C mangler tilstrekkelig plass.
  - External drive (Ekstern stasjon) Legg inn plasseringen til en USB-stasjon som er koblet til instrumentet.
  - Network location (Nettverksplassering) Legg inn en nettverksplassering.

Du kan endre standardplasseringen for hver kjøring.

- 4 Gå frem på følgende måte.
  - Hvis du har angitt en intern eller ekstern stasjonsplassering, lagrer du plasseringen og lukker System Settings (Systeminnstillinger) ved å velge Save (Lagre) og deretter Exit (Avslutt).
  - ▶ Hvis du anga en nettverksplassering, fortsetter du med trinn 5–8 slik at Universal Copy Service kobles til en konto som har tilgang til den angitte plasseringen.
- 5 Under Universal Copy Service velger du en kontotype:
  - Local System Account (Lokal systemkonto) Utdatamappen befinner seg i en katalog som det kan oppnås tilgang til med en lokal konto som har tilgang til de fleste lokale plasseringer.
  - Network Account (Nettverkskonto) Utdatamappen befinner seg i en katalog som krever påloggingsinformasjon.

Denne innstillingen gjelder for standardplasseringen for utdatamappen og en eventuell plassering som er angitt under kjøringsoppsett.

- 6 Hvis du valgte Network Account (nettverkskonto), legger du inn brukernavn og passord for kontoen.
- 7 Velg Save (Lagre).
- 8 Lukk System Settings (Systeminnstillinger) ved å velge Exit (Avslutt).

## Koble til Internett

Konfigurer en Internett-tilkobling for Wi-Fi eller Ethernet i Windows' innstillinger for nettverk og Internett, som du kan åpne fra kontrollprogramvaren. Standard Ethernet-tilkobling overfører data på en mer pålitelig måte.

- 1 I kontrollprogramvaremenyen velger du System Settings (Systeminnstillinger).
- 2 Velg fanen Network Access (Nettverkstilgang).
- 3 Velg **Network Configuration** (Nettverkskonfigurasjon), som minimerer kontrollprogramvaren og åpner Windows' innstillinger for nettverk og Internett.
- 4 Konfigurer en WiFi- eller Ethernet-tilkobling.
  - Hvis du skal konfigurere WiFi, endrer du adapteralternativet til Wi-Fi.
  - Du finner detaljerte konfigurasjonsinstruksjoner i hjelp for Windows 10 på Microsofts nettsted.
- 5 Når konfigurasjonen er fullført, lukker du innstillingene for Windows og maksimerer kontrollprogramvaren.
- 6 I fanen Network Access (Nettverkstilgang) velger du Save (Lagre).
- 7 Lukk System Settings (Systeminnstillinger) ved å velge Exit (Avslutt).

#### Koble til en proxy-server

- 1 Minimer kontrollprogramvaren.
- 2 I Windows Start åpner du dialogboksen Run (Kjøring).
- 3 Skriv inn cmd (Kommando), og deretter velger du OK.
- 4 Skriv inn følgende kommando:
  - C:\windows\System32\bitsadmin.exe /Util /SetIEProxy LocalSystem Manual\_ proxy http://<proxyserver>:<proxy port> NULL
- 5 Erstatt http://<proxyserver>:<proxy port> med din egen proxy-serveradresse og proxy-port, og NULL med eventuelle omgåelser.
- 6 Kjør kommandoen ved å trykke på Enter.
- 7 Foreta en strømtilstandsendring for instrumentet. Du finner instruksjoner i *Foreta en strømtilstandsendring for instrumentet* på side 46.

#### Brukerlevert forbruksmateriell og utstyr

#### Forbruksmateriell for sekvensering

Forbruksmateriell	Leverandør	Formål
Engangshansker, pudderfrie	Generell laboratorieleverandør	Generelt formål.
iSeq 100 i1-reagens v2	lllumina, katalognr.: • 20031371 (300 sykluser, enkeltpakning) • 20031374 (300 sykluser, firepakning) • 20040760 (300 sykluser, åttepakning)	Levere reagenser og strømningscellen til en kjøring.
Mikrorør, 1,5 ml	Fisher Scientific, katalognr. 14-222-158, eller tilsvarende rør med lav binding	Fortynne biblioteker til lastekonsentrasjonen.
Tørkepapir	Generell laboratorieleverandør	Tørke kassetten etter et vannbad.

Forbruksmateriell	Leverandør	Formål
Dråpetellerspisser, 20 µl	Generell laboratorieleverandør	Fortynne og laste biblioteker.
Dråpetellerspisser, 100 µl	Generell laboratorieleverandør	Fortynne og laste biblioteker.
Resuspensjonsbuffer (RSB)	Illumina, leveres med bibliotekklargjøringssett	Fortynne biblioteker til lastekonsentrasjonen.
<b>[Valgfritt]</b> 10 mM Tris-HCl, pH 8,5	Generell laboratorieleverandør	Erstatning for RSB for å fortynne biblioteker til lastekonsentrasjonen.
[Valgfritt] PhiX Control v3	Illumina, katalognr. FC-110-3001	Utføre en kjøring kun med PhiX eller tilsetting i en PhiX-kontroll.

## Forbruksmateriell for vedlikehold og feilsøking

Forbruksmateriell	Leverandør	Formål
Blekemiddelservietter, 10 %	VWR, katalognr. 16200-218, eller tilsvarende	Dekontaminere instrumentet og rengjøre arbeidsflater.
Engangshansker, pudderfrie	Generell laboratorieleverandør	Generelt formål.
iSeq 100 ekstra dryppbrettpute <sup>1</sup>	Illumina, katalognr. 20023927	Dekke dryppbrettet for å absorbere væskelekkasjer.
Ekstra luftfilter for iSeq 1001	Illumina, katalognr. 20023928	Bytte luftfilter hver sjette måned.
Testsett for iSeq 100- system <sup>2</sup>	Illumina, katalognr. 20024141	Utføre en systemkontroll.
Servietter med isopropylalkohol, 70 %	VWR, katalognr. 95041-714, eller tilsvarende	Rengjøre instrumentet og teststrømningscelle til flergangsbruk.
Laboratorieklut, lavt loinnhold	VWR, katalognr. 21905-026, eller tilsvarende	Tørking av dryppbrettet og teststrømningscelle til flergangsbruk.
Tørkepapir	Generell laboratorieleverandør	Tørke opp væske rundt instrumentet.
<b>[Valgfritt]</b> Kloroppløsning, 10 %	WWR, katalognr 16003-740 (32 oz), 16003-742 (16 oz), eller tilsvarende	Rengjøre arbeidsflater etter dekontaminering.
<b>[Valgfritt]</b> Etanolservietter, 70 %	Fisher Scientific, katalognr. 19- 037-876, eller tilsvarende	Erstatning for servietter med isopropylalkohol for å rengjøre instrumentet og teststrømningscelle til flergangsbruk.

<sup>1</sup> Instrumentet leveres med én installert og én ekstra. Hvis instrumentet ikke er underlagt garanti, har brukeren ansvaret for utskiftninger.

Oppbevares innpakket frem til bruk.

<sup>2</sup> Erstatter testkomponenter til flergangsbruk levert sammen med instrumentet ved utløp etter 5 år eller over 130 gangers bruk.

#### Utstyr

Vare	Kilde	Formål
Fryser, -25 °C til -15 °C	Generell laboratorieleverandør	Oppbevare kassetten.
lsbøtte	Generell laboratorieleverandør	Sette til side biblioteker.
Dråpeteller, 10 µl	Generell laboratorieleverandør	Fortynne biblioteker til lastekonsentrasjonen.
Dråpeteller, 20 µl	Generell laboratorieleverandør	Fortynne biblioteker til lastekonsentrasjonen.
Dråpeteller, 100 µl	Generell laboratorieleverandør	Fortynne biblioteker til lastekonsentrasjonen.
Kjøleskap, 2 °C til 8 °C	Generell laboratorieleverandør	Oppbevare strømningscellen.

Vare	Kilde	Formål
[Valgfritt] Tastatur	Generell laboratorieleverandør	Tillegg til skjermtastaturet.
[Valgfri] Mus	Generell laboratorieleverandør	Tillegg til berøringsskjermgrensesnittet.
[Valgfritt] Vannbad	Generell laboratorieleverandør	Tine kassetten.

# Kapittel 3 Sekvensering

Innledning	20
Tine kassetten i pose	21
Klargjøre strømningscellen og bibliotekene	22
Laste forbruksmateriell inn i kassetten	24
Konfigurere en sekvenseringskjøring (Local Run Manager)	26
Konfigurere en sekvenseringskjøring (manuell modus)	29

## Innledning

Klyngegenerering, sekvensering og analyse omfatter sekvensering på iSeq 100-systemet. Hvert trinn skjer automatisk under en sekvenseringskjøring. Avhengig av systemkonfigurasjonen utføres ytterligere analyse utenfor instrumentet etter at kjøringen er fullført.

- Klyngegenerering Bibliotek denatureres automatisk til enkle tråder, og fortynnes ytterligere i instrumentet. Under klyngegenereringen blir enkle DNA-molekyler bundet til overflaten på strømningscellen og forsterket for å danne klynger.
- Sekvensering Klynger avbildes ved hjelp av kjemi med ett fargestoff, som bruker én fluorescerende etikett og to avbildningssykluser når data skal kodes for de fire nukleotidene. Den første avbildningssyklusen påviser adenin (A) og tymin (T). En kjemisyklus spalter deretter fargestoffet fra A, og tilsetter samtidig et lignende fargestoff i cytosin (C). Den andre avbildningen påviser C og T. Etter den andre avbildningen utfører sanntidsanalyseprogramvare basebetegnelse, filtrering og kvalitetsscoring. Denne prosessen gjentas for hver sekvenseringssyklus. Du finner mer informasjon om kjemi med ett fargestoff under *Basebetegnelse* på side 42.
- Analyse Mens kjøringen går fremover, overfører kontrollprogramvaren automatisk basebetegnelsesfiler (\*.bcl) til den angitte utdataplasseringen for dataanalyse. Fremgangsmåten for dataanalyse avhenger av programmet og systemkonfigurasjonen.

## Innlastingsvolum og -konsentrasjon

Innlastingsvolumet er 20 µl. Innlastingskonsentrasjon varierer avhengig av bibliotekstype og kassett.



#### MERK

Hvis du har funnet en optimal innlastingskonsentrasjon som fungerer for iSeq 100 i1 reagens v1, anbefaler vi at du starter med den samme innlastingskonsentrasjonen ved sekvensering for iSeq 100 i1 reagens v2.

Bibliotektype	Innlastingskonsentrasjon (pM)
100 % PhiX (for en kjøring kun med PhiX)	100
AmpliSeq Library PLUS for Illumina	40–60
Nextera DNA Flex	75–125
Nextera Flex for Enrichment	50-100
Nextera XT DNA	100–200
TruSeq DNA Nano	125–175
TruSeq DNA PCR-Free	75–125

For andre bibliotektyper anbefaler Illumina 50 pM som en startlastekonsentrasjon. Optimaliser denne konsentrasjonen i løpet av påfølgende kjøringer slik at en lastekonsentrasjon som konsekvent gir data som oppfyller spesifikasjonene, identifiseres.

Lastekonsentrasjoner som er for høye eller for lave, fører til suboptimal klynge- og kjøringsmetrikk. Du finner mer informasjon i *Veiledning for klyngeoptimalisering (dokumentnr. 100000071511)*.

## Anbefalt antall sykluser

Angi minst 26 sykluser og maksimalt 151 sykluser for hver avlesning, slik at datakvaliteten blir optimal. Det nøyaktige antallet sykluser avhenger av forsøket du utfører.

Minimum og maksimalt antall sykluser inkluderer en ekstra syklus. Legg alltid én syklus til den ønskede avlesningslengden slik at virkningene av fasing og prefasing korrigeres. Avlesningslengde er antall *sekvenseringssykluser* i Read 1 (Avlesning 1) og Read 2 (Avlesning 2), som ekskluderer ekstra sykluser og indekssykluser.

Eksempel på kjøringsoppsett:

- ▶ Hvis du ønsker en avlesningslengde på 36 (enkel avlesning), oppgir du **37** i feltet Read 1 (Avlesning 1).
- Hvis du ønsker en avlesningslengde på 150 per avlesning (paired-end), oppgir du 151 i feltet Read 1 (Avlesning 1) og 151 i feltet Read 2 (Avlesning 2).

#### Sekvenseringskrav

- Når du håndterer reagenser og andre kjemikalier, må du ha på deg sikkerhetsbriller, en labfrakk og pulverfrie hansker. Skift hansker når du blir bedt om det, slik at du unngår krysskontaminasjon.
- Kontroller at du har det nødvendige forbruksmateriellet og utstyret før du starter en protokoll. Se Brukerlevert forbruksmateriell og utstyr på side 17.
- Følg protokollene i den viste rekkefølgen, og bruk de angitte volumene, temperaturene og varighetene.
- Hvis ikke et stoppunkt er angitt, går du straks videre til neste trinn.
- Hvis du planlegger å tine kassetten i et vannbad, oppbevarer du kassetten ved -25 °C til -15 °C i minst 1 døgn før tining. Et vannbad er den raskeste av tre tinemetoder.

#### Tine kassetten i pose

- 1 Ta på et nytt par pudderfrie hansker.
- 2 Ta kassetten ut av oppbevaring ved -25 °C til -15 °C.
- 3 Hvis kassetten ligger i en eske, fjerner du den fra esken, men ikke åpne den hvite folieposen.



4 Tin kassetten i pose ved hjelp av én av følgende fremgangsmåter. Brukes umiddelbart etter tining. Skal ikke fryses på nytt eller oppbevares på andre måter.

Fremgangsmåte	Tinetid	Instruksjon
20 °C til 25 °C vannbad	6 timer, ikke mer enn 18 timer	<ul> <li>Bruk 6 I vann per kassett.</li> <li>Still et temperaturstyrt bad på 25 °C, <i>eller</i> bland varmt og kaldt vann for å oppnå 20 °C til 25 °C.</li> <li>Vend poseetiketten opp, senk kassetten helt ned i vann, og påfør en vekt på ~2 kg for å hindre at den flyter opp.</li> <li>Ikke stable kassetter i vannbad med mindre det er temperaturstyrt.</li> </ul>
Kjøleskap fra 2 °C til 8 °C	36 timer, ikke mer enn 1 uke	Plasser kassetten slik at etiketten vender opp og luft kan sirkulere på alle sider, inkludert under den.
Romtemperatur i luft	9 timer, ikke mer enn 18 timer	Plasser kassetten slik at etiketten vender opp og luft kan sirkulere på alle sider, inkludert under den.

Hvis du tiner kassetten i et vannbad rett etter levering når den er oppbevart på tørris, kan det ha negativ innvirkning på ytelsen. Oppbevares ved –25 °C til –15 °C i minst 1 døgn før tining.

5 Hvis den er våt etter et vannbad, tørkes den med tørkepapir.

## Klargjøre strømningscellen og bibliotekene

Før du laster strømningscellen og bibliotekene i kassetten, sørger du for at strømningscellen når romtemperatur, fortynner biblioteker og eventuelt anriker med PhiX. Biblioteker denatureres automatisk i instrumentet.

Fortynningsinstruksjonene gjelder for støttede Illumina-biblioteker som er dobbeltstrengede. Følgende må alltid gjøres: utfør en kvalitetskontrollanalyse, optimaliser lastekonsentrasjonen for biblioteket ditt, og bruk en normaliseringsmetode som genererer dobbeltstrengede biblioteker. Kulebasert normalisering som genererer enkeltstrengede biblioteker, er ikke kompatibel med denaturering i instrumentet.

#### Fortynne bibliotek til 1 nM

FORSIKTIG

- 1 Klargjør strømningscellen på følgende måte.
  - a Fjern en ny strømningscelle fra oppbevaring ved 2 °C til 8 °C.
  - b Sett den uåpnede emballasjen til side ved romtemperatur i 10-15 minutter.
- 2 Ta resuspensjonsbuffer (RSB) ut av oppbevaring ved -25 °C til -15 °C. Du kan eventuelt bruke 10 mM Tris-HCl, pH 8,5 i stedet for RSB.
- 3 **[Valgfritt]** Ta 10 nMPhiX-råstoff ut av oppbevaring ved –25 °C til –15 °C. PhiX er kun nødvendig for en valgfri anriking eller en kjøring kun med PhiX.
- 4 Tin RSB og eventuelt PhiX ved romtemperatur i 10 minutter.

5 Fortynn 1 nM bibliotek i RSB i et mikrorør med *lav binding* til aktuelt volum:

Bibliotektype	Bibliotekvolum på 1 nM (µl)*
100 % PhiX (for en kjøring kun med PhiX)	12
AmpliSeq Library PLUS for Illumina	7
Nextera DNA Flex	12
Nextera Flex for Enrichment	10
Nextera XT DNA	20
TruSeq DNA Nano	20
TruSeq DNA PCR-Free	12

\* Volumer inkluderer overskudd for nøyaktig pipettering.

Vellykket sekvensering er avhengig av at biblioteker fortynnes i mikrorør med lav binding.

- 6 Roter et kort øyeblikk, og deretter sentrifugerer du ved 280 × g i 1 minutt.
- 7 [Valgfritt] Oppbevar 1 nM bibliotek ved -25 °C til -15 °C i opptil 1 måned.

#### Fortynne bibliotek på 1 nM til innlastingskonsentrasjon

1 Kombiner følgende volumer i et mikrorør med lav binding for å klargjøre 100 µl bibliotek fortynnet med den riktige innlastingskonsentrasjonen:

Bibliotektype*	Innlastingskonsentrasjon (pM)	1 nM bibliotekvolum (μl)	RSB-volum (µl)
100 % PhiX (for en kjøring kun med PhiX)	100	10	90
AmpliSeq Library PLUS for Illumina	40–60	5	95
Nextera DNA Flex	75–125	10	90
Nextera Flex for Enrichment	50-100	7,5	92,5
Nextera XT DNA	100-200	15	85
TruSeq DNA Nano	125–175	15	85
TruSeq DNA PCR-Free	75–125	10	90

Disse tabellene gir eksempler på innlastingskonsentrasjoner. iSeq 100-systemet er kompatibelt med alle bibliotekklargjøringssett fra Illumina, unntatt SureCell WTA 3', men den optimale lastekonsentrasjonen kan variere.

- 2 Roter et kort øyeblikk, og deretter sentrifugerer du ved 280 × g i 1 minutt.
- 3 Sett fortynnet bibliotek til side på is for sekvensering. Sekvenser biblioteker samme dag som de fortynnes.
- 4 Hvis du *ikke* skal tilsette PhiX, eller hvis du skal utføre en kjøring kun med PhiX, skal du hoppe over neste del og gå videre til *Laste forbruksmateriell inn i kassetten* på side 24.

#### Tilsette en PhiX-kontroll (valgfritt)

PhiX er et lite Illumina-bibliotek som er klart til bruk med balansert nukleotidfremstilling. Tilsetning av en 2 % PhiX-anriking til biblioteket gir ytterligere metrikk. For biblioteker med lav diversitet brukes 10 % anriking for å øke basediversitet. MERK

En anriking så lav som 1 % er effektiv for å gi ytterligere beregninger, men gjør pipettering vanskelig.

- 1 Kombiner følgende volumer i et mikrorør med lav binding for å klargjøre 50 µl 1 nM PhiX:
  - ▶ 10 nM PhiX (5 µl)
  - ▶ RSB (45 µl)
- 2 Roter et kort øyeblikk, og sentrifuger deretter ved 280 × g i 1 minutt.
- 3 [Valgfritt] Oppbevar 1 nM PhiX ved -25 °C til -15 °C i opptil 1 måned.
- 4 Kombiner 1 nM PhiX og RSB i et mikrorør med lav binding for å klargjøre 100 μl PhiX fortynnet til samme innlastingskonsentrasjon som biblioteket.

Eksempel:

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

- 5 Kombiner PhiX og bibliotek:
  - Tilsett 2 µl fortynnet PhiX til 100 µl fortynnet bibliotek for å få en 2 % anriking.
  - Tilsett 10 µl fortynnet PhiX til 100 µl fortynnet bibliotek for å få en 10 % anriking. Faktisk PhiX-prosentandel varierer avhengig av bibliotekets kvalitet og kvantitet.
- 6 Roter et kort øyeblikk, og deretter sentrifugerer du ved 280 × g i 1 minutt.
- 7 Sett biblioteket med PhiX-anriking til side på is.

#### Laste forbruksmateriell inn i kassetten

- 1 **[Valgfritt]** Hvis du vil se en instruksjon om klargjøring og lasting av kassetter, velger du **Sequence** (Sekvens).
- 2 Åpne kassettposen fra hakkene.
- 3 Unngå tilgangsvinduet øverst på kassetten, og ta kassetten ut av posen. Kast posen.
- Snu kassetten fem ganger for å blande reagensene.
   Innvendige komponenter kan rasle når du snur kassetten, noe som er helt normalt.
- 5 Sikre reagensaspirasjon ved å slå kassetten (med etiketten vendt opp) lett mot benken eller en annen hard overflate fem ganger.

## Laste inn bibliotek

1 Perforer bibliotekbeholderen med en ny dråpetellerspiss, og skyv folien ut til kantene slik at hullet forstørres.



- 2 Kast dråpetellerspissen slik at kontaminasjon unngås.
- 3 Tilsett 20 µl fortynnet bibliotek i *bunnen* av beholderen. Unngå å ta på folien.



#### Laste inn strømningscellen

- 1 Åpne den hvite folieemballasjen til strømningscellen fra hakkene. Må brukes innen 24 timer etter åpning.
- 2 Dra strømningscellen ut av emballasjen.
  - Du må kun berøre plasten ved håndtering av strømningscellen.
  - Unngå å berøre det elektriske grensesnittet, CMOS-sensoren, glass og pakninger på begge sider av glasset.



- 3 Hold strømningscellen i gripepunktene med etiketten vendt opp.
- Plasser strømningscellen i sporet på forsiden av kassetten.
   Det høres et klikk som angir at strømningscellen er på plass. Når kassetten er lastet riktig inn, stikker grepet frem fra kassetten, og glasset er synlig fra tilgangsvinduet.



- A Innlasting av strømningscellen
- B Innlastet strømningscelle
- 5 Avhend emballasjen på følgende måte.
  - a Fjern oppbevaringskofferten fra folieemballasjen.
  - b Fjern tørkemiddelet fra oppbevaringskofferten.
  - c Resirkuler oppbevaringskofferten, og kast folieemballasjen og tørkemiddelet.
- 6 Gå frem avhengig av om systemet er integrert med Local Run Manager:
  - Hvis du bruker Local Run Manager, følger du Konfigurere en sekvenseringskjøring (Local Run Manager) på side 26.
  - Hvis du ikke bruker Local Run Manager, følger du Konfigurere en sekvenseringskjøring (manuell modus) på side 29.

## Konfigurere en sekvenseringskjøring (Local Run Manager)

Å sette opp en kjøring med Local Run Manager innbefatter å opprette og lagre kjøringen i Local Run Manager for deretter å gå tilbake til kontrollprogramvaren og laste forbruksmateriell samt velge kjøringen. Data lagres til den angitte utdatamappen for analyse, som Local Run Manager utfører automatisk når kjøringen er fullført.

1 Åpne Local Run Manager lokalt på instrumentets monitor eller eksternt fra en annen datamaskin:

Tilgang	Åpne Local Run Manager
Lokal	l kontrollprogramvaremenyen velger du <b>Local Run Manager</b> , og deretter velger du <b>Open Local Run</b> <b>Manager</b> (Åpne Local Run Manager).
Ekstern	I kontrollprogramvaremenyen velger du <b>About</b> (Om) slik at du får tilgang til systemets IP-adresse. Fra en datamaskin i samme nettverk som instrumentet åpner du Local Run Manager i Chromium. Koble til ved hjelp av systemets IP-adresse.

- 2 Hvis Chromium er tom på instrumentets monitor, foretar du en strømtilstandsendring for instrumentet og starter kjøringsoppsettet på nytt. Du finner instruksjoner i *Foreta en strømtilstandsendring for instrumentet* på side 46.
- 3 Opprett og lagre kjøringen i Local Run Manager.
  - ▶ Du finner instruksjoner i Veiledning for Local Run Manager-programvare (dokumentnr. 100000002702).
  - ▶ Konfigurer en kjøring kun med PhiX som ikke skal indekseres.

Local Run Manager sender automatisk lagrede kjøringer til kontrollprogramvaren.

4 Velg Sequence (Sekvens) i programvaren. Programvaren åpner døren på skrått, støter ut brettet og starter serien med skjermbildet for kjøringsoppsett.

Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR

5 **[Valgfritt]** Vis en påminnelse i skjermbildet ved å velge **Help** (Hjelp). Hjelpemeldinger vises i hvert skjermbilde for å gi tilleggsveiledning.

### Laste kassetten inn i instrumentet

- 1 Kontroller at kassetten er tint og inneholder strømningscellen og det fortynnede biblioteket.
- 2 Plasser testkassetten på brettet slik at tilgangsvinduet vender opp og strømningscellen er inne i instrumentet. Ikke skyv kassetten eller brettet inn i instrumentet.



Trekk inn kassetten og lukk døren ved å velge Close Door (Lukk dør).
 Et panel vises i venstre side av skjermbildet, som viser informasjon fra det skannede forbruksmateriellet.

## Logge på BaseSpace Sequence Hub

Skjermbildet BaseSpace Sequence Hub vises når systemet er konfigurert for Run Monitoring (Kjøringsovervåking) eller Run Monitoring and Storage (Kjøringsovervåking og -lagring).

- Hvis du vil koble den aktuelle kjøringen fra BaseSpace Sequence Hub, velger du Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In (Hopp over pålogging på BaseSpace Sequence Hub).
   Instrumentytelsesdata sendes likevel til Illumina.
- 2 Hvis du vil endre tilkobling for den aktuelle kjøringen, velger du et konfigurasjonsalternativ:
  - Run Monitoring Only (Kun kjøringsovervåking) Send kun InterOp-filer til BaseSpace Sequence Hub for å tillate fjernovervåking.
  - Run Monitoring and Storage (Kjøringsovervåking og -lagring) Send kjøringsdata til BaseSpace Sequence Hub for å tillate fjernovervåking og analyse.
- 3 Legg inn påloggingsinformasjonen din for BaseSpace Sequence Hub, og deretter velger du **Sign In** (Logg på).
- 4 Hvis listen Available Workgroups (Tilgjengelige arbeidsgrupper) vises, velger du en arbeidsgruppe som du vil laste opp kjøringsdata til.

Listen vises når du tilhører flere arbeidsgrupper.

5 Velg Run Setup (Kjør oppsett).

#### Velge en kjøring

- 1 Hvis skjermbildet Log In (Logg på) vises i Local Run Manager:
  - a Angi brukernavnet og passordet ditt.
  - b Velg Log In (Logg på).

Skjermbildet vises når Local Run Manager er konfigurert for å kreve pålogging. Pålogging er som standard ikke påkrevd.

Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR

- 2 Velg en kjøring i listen Run Name (Kjøringsnavn), som oppgir kjøringer som er lagret i Local Run Manager.
  - ▶ Vis en oppdatert liste ved å velge **Refresh** (Oppdater).
  - Velg Open Local Run Manager (Åpne Local Run Manager) og opprett en kjøring for å fylle ut en tom liste.

Hvis du velger Open Local Run Manager (Åpne Local Run Manager), minimeres kontrollprogramvaren, og Local Run Manager åpnes i Chromium.

- 3 Hvis du forlot kontrollprogramvaren for å opprette en kjøring, går du tilbake og velger kjøringen. Velg **Refresh** (Oppdater) for å oppdatere listen.
- 4 [Valgfritt] Velg Edit (Rediger), og endre deretter kjøringsparametere:
  - a Hvis du vil endre avlesningstype, velger du **Single Read** (Enkel avlesning) eller **Paired End** (Pairedend).
  - b Hvis du vil endre Read Cycle (Avlesningssyklus), legger du inn 26–151 sykluser hver for Read 1 (Avlesning 1) og Read 2 (Avlesning 2). Legg én syklus til ønsket antall sykluser.
  - c Hvis du vil endre utdatamappen for den aktuelle kjøringen, legger du inn banen til plasseringen eller velger **Browse** (Bla gjennom) og navigerer til den.
  - d Velg Save (Lagre), så oppdateres kjøringen i både kontrollprogramvaren og Local Run Manager.
- 5 Start kontrollen før kjøring ved å velge Start Run (Start kjøring).

## Gå gjennom kontroller før kjøring

Kontroller før kjøring innbefatter en instrumentkontroll og en strømningskontroll. Strømningskontrollen perforerer kassettforseglingene og sender reagens gjennom strømningscellen, slik at forbruksmateriell ikke kan brukes på nytt etter at strømningskontrollen starter.

1 Vent i ca. 15 minutter mens kontrollene før kjøring fullføres.

Kjøringen starter automatisk etter fullføring. Med mindre systemets lyd er dempet, angir en ringelyd at kjøringen har startet.



#### FORSIKTIG

Hvis du åpner døren under kontrollen før kjøring eller kjøringen, kan kjøringen mislykkes.

2 Hvis det oppstår en feil under instrumentkontrollen, velger du **Retry** (Prøv på nytt) slik at kontrollen utføres på nytt.

Instrumentkontrollen kommer før strømningskontrollen. Når en kontroll pågår, er stolpen aktiv.

3 Hvis en feil oppstår på nytt, feilsøker du i henhold til Løse feilmeldinger på side 45.

## Overvåke kjøringens fremdrift

1 Overvåk kjøringens fremdrift og metrikk etter hvert som de vises i skjermbildet Sequencing (Sekvensering) etter syklus 26.

Metrikk	Beskrivelse
%Q30 Read 1 (%Q30 avlesning 1)	Prosentandelen av basebetegnelser for Read 1 (Avlesning 1) med en Q-score $\ge$ 30.
%Q30 Read 2 (%Q30 avlesning 2)	Prosentandelen av basebetegnelser for Read 2 (Avlesning 2) med en Q-score $\ge$ 30.
% Clusters PF (% klynge-PF)	Prosentandelen av klynger som passerte kvalitetsfiltre.
%Occupancy (% fyllingsgrad)	Prosentandelen av strømningscellebrønner som inneholder klynger.
Metrikk	Beskrivelse
---	---
Projected Total Yield (Planlagt total produksjon)	Det forventede antallet baser som betegnes for kjøringen.

2 Hvis du vil overvåke filkopiering og andre kjøringsprosesser, velger du kontrollprogramvaremenyen, og deretter velger du **Process Management (Prosessbehandling)**.

## Laste ut forbruksmateriell

- 1 Når sekvensering er fullført, velger du **Eject Cartridge** (Støt ut kassett). Programvaren støter den brukte kassetten ut av instrumentet.
- 2 Fjern kassetten fra brettet.
- 3 Fjern strømningscellen fra kassetten.
- 4 Avhend strømningscellen, som har elektroniske komponenter, i henhold til gjeldende lokale standarder.
- 5 Avhend kassetten, som inneholder brukte reagenser, i henhold til gjeldende lokale standarder. En kjøring etter vasking er ikke nødvendig fordi væsken avhendes sammen med kassetten.



#### ADVARSEL

Dette reagenssettet inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert vernebriller, hansker og laboratoriefrakk som er egnet ved risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter. Hvis du ønsker ytterligere informasjon om helse, miljø og sikkerhet, kan du se mer på support.illumina.com/sds.html.

6 Last inn brettet på nytt og gå tilbake til startskjermbildet ved å velge Close Door (Lukk dør). Programvaren laster automatisk inn brettet på nytt, og sensorer bekrefter at kassetten er fjernet.

### Konfigurere en sekvenseringskjøring (manuell modus)

Å sette opp en kjøring i manuell modus betyr å angi kjøringsparametere i kontrollprogramvaren og utføre analyse utenfor instrumentet med et program etter eget ønske. Programvaren lagrer data til utdatamappen for analysen. Hvis du vil generere FASTQ-filer, kreves det et ekstra trinn.

- 1 Hvis systemet er konfigurert for kjøringsanalyse, samarbeid og lagring med BaseSpace Sequence Hub, oppretter du et prøveark for kjøringen:
  - a Last ned *iSeq 100-systemprøvearkmal for manuell modus* fra siden for *iSeq 100-* programvarenedlastinger.
  - b Endre malen etter behov. Kontroller at:
    - Adaptersekvensene for Index 2 (Indeks 2) (i5) er i riktig retning. Du finner informasjon om retninger i *Illumina-adaptersekvenser (dokumentnr. 100000002694)*.
    - Prøvearkverdier samsvarer med kontrollprogramvareverdier. Legg for eksempel inn 151 i feltet Read 1 (Avlesning 1) i både prøvearket og skjermbildet Run Setup (Kjøringsoppsett).
  - c Lagre malen i CSV-filformat.
- 2 Velg **Sequence** (Sekvens) i programvaren.

Programvaren åpner døren på skrått, støter ut brettet og starter serien med skjermbildet for kjøringsoppsett.

3 [Valgfritt] Vis en påminnelse i skjermbildet ved å velge Help (Hjelp).

Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR

Hjelpemeldinger vises i hvert skjermbilde for å gi tilleggsveiledning.

### Laste kassetten inn i instrumentet

- 1 Kontroller at kassetten er tint og inneholder strømningscellen og det fortynnede biblioteket.
- 2 Plasser testkassetten på brettet slik at tilgangsvinduet vender opp og strømningscellen er inne i instrumentet. Ikke skyv kassetten eller brettet inn i instrumentet.



Trekk inn kassetten og lukk døren ved å velge Close Door (Lukk dør).
 Et panel vises i venstre side av skjermbildet, som viser informasjon fra det skannede forbruksmateriellet.

### Logge på BaseSpace Sequence Hub

Skjermbildet BaseSpace Sequence Hub vises når systemet er konfigurert for Run Monitoring (Kjøringsovervåking) eller Run Monitoring and Storage (Kjøringsovervåking og -lagring).

- Hvis du vil koble den aktuelle kjøringen fra BaseSpace Sequence Hub, velger du Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In (Hopp over pålogging på BaseSpace Sequence Hub).
   Instrumentytelsesdata sendes likevel til Illumina.
- 2 Hvis du vil endre tilkobling for den aktuelle kjøringen, velger du et konfigurasjonsalternativ:
  - Run Monitoring Only (Kun kjøringsovervåking) Send kun InterOp-filer til BaseSpace Sequence Hub for å tillate fjernovervåking.
  - Run Monitoring and Storage (Kjøringsovervåking og -lagring) Send kjøringsdata til BaseSpace Sequence Hub for å tillate fjernovervåking og analyse.
- 3 Legg inn påloggingsinformasjonen din for BaseSpace Sequence Hub, og deretter velger du Sign In (Logg på).
- 4 Hvis listen Available Workgroups (Tilgjengelige arbeidsgrupper) vises, velger du en arbeidsgruppe som du vil laste opp kjøringsdata til.
  Listen vises pår du tilbører flere erbeidegrupper

Listen vises når du tilhører flere arbeidsgrupper.

5 Velg Run Setup (Kjør oppsett).

### Legge inn kjøringsparametere

1 I feltet Run Name (Kjøringsnavn) oppgir du et unikt navn etter ønske som identifiserer den aktuelle kjøringen.

Kjøringsnavnet kan inneholde alfanumeriske tegn, bindestreker og understrekingstegn.

- 2 For Read Type (Avlesningstype) velger du ett av følgende alternativer:
  - Single Read (Enkel avlesning) Utfør én sekvenseringsavlesning, som er det raskeste, enkleste alternativet.

Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR

- Paired End (Paired-end) Utfør to sekvenseringsavlesninger, som genererer data av høyere kvalitet og gir mer nøyaktig innretting.
- 3 I Read Cycle (Avlesningssyklus) oppgir du antall sykluser som skal utføres i hver avlesning.
  - For Read 1 (Avlesning 1) og Read 2 (Avlesning 2) legger du til én syklus til ønsket antall sykluser.
  - ► For en kjøring kun med PhiX legger du inn **0** i begge indeksfeltene.

Avlesning	Antall sykluser
Read 1 (Avlesning 1)	26–151
Index 1 (Indeks 1)	Opptil 10
Index 2 (Indeks 2)	Opptil 10
Read 2 (Avlesning 2)	26–151

Read 2 (Avlesning 2) er typisk den samme verdien som Read 1 (Avlesning 1), inkludert den ekstra syklusen. Index 1 (Indeks 1) sekvenserer i7-indeksadapteren, og Index 2 (Indeks 2) sekvenserer i5-indeksadapteren.

- 4 Hvis du vil angi en utdatamappe for den aktuelle kjøringen eller laste opp et prøveark, velger du **Advanced** (Avansert):
  - I feltet Output Folder (Utdatamappe) legger du inn banen til utdatamappens plassering eller velger
     Browse (Bla gjennom) og navigerer til den.
  - I feltet Sample Sheet (Prøveark) legger du inn banen til prøvearkets plassering eller velger Browse (Bla gjennom) og navigerer til den.
- 5 Start kontrollen før kjøring ved å velge Start Run (Start kjøring).

## Gå gjennom kontroller før kjøring

Kontroller før kjøring innbefatter en instrumentkontroll og en strømningskontroll. Strømningskontrollen perforerer kassettforseglingene og sender reagens gjennom strømningscellen, slik at forbruksmateriell ikke kan brukes på nytt etter at strømningskontrollen starter.

1 Vent i ca. 15 minutter mens kontrollene før kjøring fullføres.

Kjøringen starter automatisk etter fullføring. Med mindre systemets lyd er dempet, angir en ringelyd at kjøringen har startet.



### FORSIKTIG

Hvis du åpner døren under kontrollen før kjøring eller kjøringen, kan kjøringen mislykkes.

2 Hvis det oppstår en feil under instrumentkontrollen, velger du **Retry** (Prøv på nytt) slik at kontrollen utføres på nytt.

Instrumentkontrollen kommer før strømningskontrollen. Når en kontroll pågår, er stolpen aktiv.

3 Hvis en feil oppstår på nytt, feilsøker du i henhold til Løse feilmeldinger på side 45.

## Overvåke kjøringens fremdrift

1 Overvåk kjøringens fremdrift og metrikk etter hvert som de vises i skjermbildet Sequencing (Sekvensering) etter syklus 26.

Metrikk	Beskrivelse
%Q30 Read 1 (%Q30 avlesning 1)	Prosentandelen av basebetegnelser for Read 1 (Avlesning 1) med en Q-score $\geq$ 30.
%Q30 Read 2 (%Q30 avlesning 2)	Prosentandelen av basebetegnelser for Read 2 (Avlesning 2) med en Q-score $\geq$ 30.
% Clusters PF (% klynge-PF)	Prosentandelen av klynger som passerte kvalitetsfiltre.
%Occupancy (% fyllingsgrad)	Prosentandelen av strømningscellebrønner som inneholder klynger.
Projected Total Yield (Planlagt total produksjon)	Det forventede antallet baser som betegnes for kjøringen.

2 Hvis du vil overvåke filkopiering og andre kjøringsprosesser, velger du kontrollprogramvaremenyen, og deretter velger du **Process Management (Prosessbehandling)**.

## Laste ut forbruksmateriell

- 1 Når sekvensering er fullført, velger du **Eject Cartridge** (Støt ut kassett). Programvaren støter den brukte kassetten ut av instrumentet.
- 2 Fjern kassetten fra brettet.
- 3 Fjern strømningscellen fra kassetten.
- 4 Avhend strømningscellen, som har elektroniske komponenter, i henhold til gjeldende lokale standarder.
- 5 Avhend kassetten, som inneholder brukte reagenser, i henhold til gjeldende lokale standarder. En kjøring etter vasking er ikke nødvendig fordi væsken avhendes sammen med kassetten.



### ADVARSEL

Dette reagenssettet inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert vernebriller, hansker og laboratoriefrakk som er egnet ved risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter. Hvis du ønsker ytterligere informasjon om helse, miljø og sikkerhet, kan du se mer på support.illumina.com/sds.html.

6 Last inn brettet på nytt og gå tilbake til startskjermbildet ved å velge Close Door (Lukk dør). Programvaren laster automatisk inn brettet på nytt, og sensorer bekrefter at kassetten er fjernet.

# Kapittel 4 Vedlikehold

Frigjøre plass på harddisken	33
Programvareoppdateringer	33
Skifte ut luftfilteret	35
Flytte instrumentet	36
-	

## Frigjøre plass på harddisken

En sekvenseringskjøring krever ca. 2 GB ledig plass på harddisken. Når det er lite ledig plass, sletter du fullførte kjøringer og frigjør plass ved å følge disse trinnene.

- I kontrollprogramvaremenyen velger du Process Management (Prosessbehandling).
   Skjermbildet Process Management (Prosessbehandling) vises med en liste over kjøringer som er lagret til harddisken.
- 2 Velg Delete (Slett) for kjøringen du vil slette. Når du sletter en kjøring, slettes den lokale kjøringsmappen. Utdatamappen, som er en kopi av kjøringsmappen, beholdes.
- 3 I dialogboksen bekrefter du sletting av kjøringen ved å velge Yes (Ja).
- 4 Gjenta 2 og 3 for hver kjøring du vil slette.
- 5 Når du er ferdig, velger du Process Management (Prosessbehandling) for å gå tilbake til skjermbildet Sequence (Sekvens).

### Programvareoppdateringer

Hvis du oppdaterer programvaren, sikrer du at systemet har de nyeste funksjonene og feilrettingene. Programvareoppdateringer er samlet i en systemserie som inneholder følgende programvare:

- iSeq kontrollprogramvare
- iSeq 100-systemoppskrifter
- Universal Copy Service
- Sanntidsanalyse
- Local Run Manager (kun rammeverk)



### MERK

Selv om systemserien inneholder Local Run Manager, inneholder den ikke analysemodulene. Installer dem separat etter behov ved hjelp av sbsadmin-kontoen. Oppnå tilgang til analysemodusprogramvaren fra støttesidene for Local Run Manager.

Systemet er konfigurert for å laste ned programvareoppdateringer automatisk eller manuelt:

- Automatic updates (Automatiske oppdateringer) Oppdateringer lastes automatisk ned fra BaseSpace Sequence Hub slik at du kan installere dem. Dette alternativet krever Internett-tilkobling, men ikke en BaseSpace Sequence Hub-konto.
- Manual updates (Manuelle oppdateringer) Oppdateringer lastet ned fra nettet, lagres lokalt eller på en bærbar enhet, og installeres fra den lagrede plasseringen. Dette alternativet krever ikke en Internetttilkobling.

## Installere en automatisk programvareoppdatering

- 1 Bytt til sbsadmin-operativsystemkontoen.
- Velg kontrollprogramvaremenyen, og velg deretter Software Update (Programvareoppdatering) for å åpne dialogboksen Software Update (Programvareoppdatering).
   Systemer som er konfigurert for automatiske oppdateringer viser et varsel når en programvareoppdatering er tilgjengelig.
- 3 Hvis du vil se etter en oppdatering, velger du ett av følgende alternativer:
  - **Check for Update** (Se etter oppdatering) Se etter en programvareoppdatering.
  - Autocheck for Updates (Se etter oppdateringer automatisk) Se etter en programvareoppdatering, og konfigurer systemet slik at det ser etter fremtidige oppdateringer automatisk.
     Disse alternativene er synlige på systemer som er koblet til Internett, men ikke konfigurert for automatiske oppdateringer.
- 4 Last ned den nye programvareversjonen ved å velge **Update** (Oppdater). Når nedlastingen er fullført, lukkes kontrollprogramvaren, og installasjonsveiviseren vises.
- 5 Velg Install (Installer) i installasjonsveiviseren.



MERK

Hvis du avbryter en oppdatering før installasjonen er fullført, stopper oppdateringen på det aktuelle stedet. Eventuelle endringer som er utført frem til avbrytelsen gjenopprettes til den forrige versjonen eller installeres ikke.

- 6 Når installasjonen er fullført, velger du Close (Lukk).
- 7 Velg Yes (Ja) hvis Registry Editor (Registerredigering) vises. Kontrollprogramvaren starter automatisk på nytt. En eventuell fastvareoppdatering skjer automatisk etter omstarten.

### Installere en manuell programvareoppdatering

- 1 Bytt til sbsadmin-operativsystemkontoen.
- 2 Når en programvareoppdatering er tilgjengelig, laster du ned installasjonsprogrammet for serien (\*.exe) fra støttesiden for iSeq 100-sekvenseringssystem. Lagre installasjonsprogrammet til en lokal eller bærbar stasjon.
- 3 Hvis du lagret installasjonsprogrammet til en bærbar stasjon, plugger du stasjonen i en USB-port på baksiden av instrumentet. Flytt instrumentet etter behov for å få tilgang til baksiden.
- 4 I kontrollprogramvaren velger du **Software Update** (Programvareoppdatering) i kontrollprogramvaremenyen.
- 5 I dialogboksen Software Update (Programvareoppdatering) utvider du **Install from local or portable drive** (Installer fra lokal eller bærbar stasjon).
- 6 Naviger til installasjonsprogrammet ved å velge **Browse** (Bla gjennom).
- 7 Start initialiseringen ved å velge **Update** (Oppdater). Kontrollprogramvaren lukkes, og installasjonsveiviseren vises.
- 8 Velg Install (Installer) i installasjonsveiviseren.

Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR



#### MERK

Hvis du avbryter en oppdatering før installasjonen er fullført, stopper oppdateringen på det aktuelle stedet. Eventuelle endringer som er utført frem til avbrytelsen gjenopprettes til den forrige versjonen eller installeres ikke.

- 9 Når installasjonen er fullført, velger du Close (Lukk).
- 10 Velg Yes (Ja) hvis Registry Editor (Registerredigering) vises. Kontrollprogramvaren starter automatisk på nytt. En eventuell fastvareoppdatering skjer automatisk etter omstarten.

## Skifte ut luftfilteret

Luftfilteret er en skumbit til engangsbruk, som dekker de to viftene på baksiden av instrumentet. Det sørger for grundig avkjøling og forhindrer at smuss kommer inn i systemet. Instrumentet leveres med ett installert luftfilter og ett i reserve. Ekstra reservedeler omfattes av garantien, eller de kan kjøpes fra Illumina.

Programvaren varsler om et bytte av luftfilter hver sjette måned etter at førstegangs oppsett ble startet. Skift ut et utløpt luftfilter ved hjelp av følgende instruksjoner.

- 1 Plasser instrumentet slik at du enkelt får tilgang til baksiden.
- 2 På baksiden av instrumentet trykker du på høyre side av dekkplaten slik at den frigjøres som vist i illustrasjonen nedenfor.



3 Fjern platen fra instrumentet.



4 Fjern skumluftfilteret fra midten av platen, og kast det.



- 5 Plasser et nytt luftfilter i platen, og trykk for å feste.
- 6 Sett de to platekrokene inn i hullene i instrumentet, og trykk platen på plass.



- 7 Sett instrumentet tilbake på plass.
- 8 Fortsett ved å velge Filter Changed (Filter byttet).

## **Flytte instrumentet**

Flytt instrumentet på en sikker måte ved hjelp av følgende instruksjoner. Kontroller at den nye plasseringen oppfyller kravene som beskrives i *Veiledning for klargjøring av stedet for iSeq 100-sekvenseringssystem (dokumentnr. 100000035337)*.

Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR Kun til forskningsbruk. Ikke til bruk ved diagnostiske prosedyrer. Hvis du skal sende et instrument i retur, hopper du over dette avsnittet og går til Avansert bytte på side 53.

- 1 Velg Shut Down System (Avslutt system) i menyen.
- 2 Hvis ikke systemet avsluttes, trykker du på og holder inne av/på-knappen på venstre side av instrumentet til lyset tones ned.
- 3 Når av/på-knappen pulserer, trykker du på av-siden (**O**) av vekslebryteren på baksiden. Det kan hende at av/på-knappen fortsetter å pulsere etter at strømmen er slått av.





- 4 Koble strømledningen fra stikkontakten, og deretter fra vekselstrømuttaket på baksiden.
- 5 Hvis det er aktuelt, kobler du Ethernet-kabelen fra stikkontakten, og deretter fra Ethernet-porten på baksiden.
- 6 Senk monitoren.
- 7 Flytt instrumentet til ønsket plassering.Instrumentet veier 15,9 kg og må løftes av to personer.
- 8 Hev monitoren.
- 9 Hvis instrumentet er koblet til et nettverk, kobler du Ethernet-kabelen til en Ethernet-port.
- 10 Koble strømledningen til strøminntaket på baksiden og deretter til en stikkontakt.
- 11 Trykk på på-siden (I) av vekslebryteren.

12 Når av/på-knappen pulserer, trykker du på den.



Figur 8 Av/på-knappens plassering

13 Når operativsystemet er lastet, logger du deg på Windows. Kontrollprogramvaren startes og initialiserer systemet. Startskjermbildet vises når initialiseringen er fullført.

# Vedlegg A Utdata for sekvensering

Oversikt over sanntidsanalyse	39
Arbeidsprosess for sanntidsanalyse	41

## Oversikt over sanntidsanalyse

Sanntidsanalyseprogramvaren kjører på instrumentets kontrolldatamaskin. Under en sekvenseringskjøring ekstraherer den intensiteter fra bilder slik at den kan utføre basebetegnelse, og deretter tilordnes basebetegnelsen en kvalitetsscore.

iSeq 100-sekvenseringssystem bruker RTA2-implementeringen av sanntidsanalyse. RTA2 og kontrollprogramvaren kommuniserer gjennom et HTTP-grensesnitt på nettet og delte minnefiler. Hvis RTA2 avsluttes, gjenopptas ikke behandlingen, og kjøringsdata lagres ikke.



MERK

Demultipleksytelse beregnes ikke, så fanen Index (Indeks) i Sequencing Analysis Viewer er ikke fylt ut.

### Inndatafiler

RTA2 krever følgende inndatafiler for behandling:

- Flisbilder plassert i et lokalt systemminne.
- ▶ Konfigurasjonsfil for sanntidsanalyse i XML-format.
- RunInfo.xml, som kontrollprogramvaren genererer automatisk i begynnelsen av kjøringen.

RTA2 mottar kommandoer fra kontrollprogramvaren som inkluderer informasjon om plasseringen til RunInfo.xml og om en utdatafil er spesifisert. Fra RunInfo.xml avleser RTA2 kjøringsnavnet, antall sykluser, om en avlesning er indeksert og antall fliser på strømningscellen.

## Utdatafiler

Bilder sendes i minne til RTA2 som fliser, som er små avbildningsområder på strømningscellen definert av én kameravisning. iSeq 100 i1-strømningscellen har 16 fliser.

Fra disse bildene produserer RTA2 et sett med kvalitetsscorede basebetegnelsesfiler og filterfiler som primære utdata. Andre filer støtter generering av de primære utdataene.

Filtype	Filtype, -plassering og -navn
Basebetegnelsesfiler	Hver flis som er analysert innbefattes i en basebetegnelsesfil, som aggregeres i én fil per syklus. Den aggregerte filen inneholder basebetegnelsen og tilknyttet kvalitetsscore for hver klynge. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [Cycle].bcl.bgzf, hvor [Cycle] (Syklus) representerer syklusnummeret i fire sifre. Basebetegnelsesfiler komprimeres ved hjelp av blokk-GZip-komprimering.
Basebetegnelsesindeksfiler	En basebetegnelsesindeksfil bevarer den opprinnelige flisinformasjonen. For hver flis inneholder indeksfilen flisnummeret og antallet klynger. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [Cycle].bcl.bgzf.bci
Klyngeplasseringsfiler	Én klyngeplasseringsfil (s.locs) inneholder X-, Y-koordinatene for hver klynge på strømningscellen. Data\Intensities s.locs

Filtype	Filtype, -plassering og -navn
Filterfiler	Filterfiler angir om klynger går gjennom filter. Det genereres én filterfil for hver flis. Filterfiler genereres i syklus 26 med 25 sykluser med data. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane].filter
InterOp-filer	Sanntidsmetrikk av kjøringskvalitet som oppdateres gjennom hele kjøringen. Disse binære filene inneholder fil-, syklus- og avlesningsmetrikk, og er nødvendige for å vise metrikk i Sequencing Analysis Viewer. InterOp-mappe
RTA-konfigurasjonsfil	Oppgir parametere for kjøringen. Filen opprettes i begynnelsen av kjøringen og kombinerer verdier fra inndatakonfigurasjonsfilen og verdiene som RTA2 definerer. [Rotmappe], RTAConfiguration.xml
Kjøringsinformasjonsfil*	Oppgir kjøringsnavnet, antall sykluser per avlesning, om avlesningen er en indeksavlesning samt antall skår og fliser. Opprettes i begynnelsen av kjøringen. [Rotmappe], RunInfo.xml
Miniatyrbildefiler	Miniatyrbilder av strømningscellefliser. Images\L001\C[X.1] – Filer lagres i én mappe for hver bane og én undermappe for hver syklus. s_[lane]_[tile].jpg – Miniatyrbildet innbefatter flisnummeret.

\*Opprettet av kontrollprogramvaren. RTA2 oppretter alle andre filer som er oppgitt i tabellen.

Local Run Manager og BaseSpace Sequence Hub konverterer automatisk basebetegnelsesfiler til FASTQfiler. Ved sekvensering i manuell modus bruker du den nyeste versjonen av bcl2fastq2konverteringsprogramvaren til å konvertere FASTQ-filer. Last ned programvaren fra støttesidene for bcl2fastq-konverteringsprogramvare på Illuminas nettsted.

### Utdatamappens navn og bane

For hver kjøring genererer kontrollprogramvaren automatisk en utdatamappe og en kjøringsmappe. Du får tilgang til kjøringsdataene fra utdatamappen, som er en kopi av kjøringsmappen. Kjøringsmappen er beregnet på systembruk.

Banen til utdatamappen er brukerdefinert, men er D:\ som standard. Kontrollprogramvaren navngir utdatamappen med følgende format.

Format	Eksempel
<ÅÅÅMMDD>_ <instrument-id>_<kjøringsnummer>_<strømningscelle- ID&gt;</strømningscelle- </kjøringsnummer></instrument-id>	20180331_FFSP247_4_BNS417-05-25-12

Kjøringsnummeret øker i trinn på én hver gang systemet utfører en kjøring. Serienumre identifiserer instrumentet og strømningscellen.

Utdatamappens struktur

🧰 Recipe (Oppskrift) – Kjøringsspesifikk oppskriftsfil.
E Logs (Logger) – Loggfiler som beskriver instrumentanalyser, driftstrinn og andre hendelser.
🛅 Config (Konfig.) – Konfigurasjonsinnstillinger for kjøringen.
RunParameters.xml
RunInfo.xml
E CopyComplete.txt
RunCompletionStatus.txt
E RTAComplete.txt
RTAConfiguration.xml
🧰 Data
Intensities (Intensiteter)
<b>BaseCalls</b> (Basebetegnelser)
C L001
s.locs
nterOp
images (Bilder)
🗏 SampleSheet.csv – Prøveark eller prøvemanifestet.
🧰 RTALogs – Loggfiler som beskriver RTA2-hendelser.

## Feilhåndtering

RTA2 oppretter loggfiler og skriver dem til RTALogs-mappen. Feil registreres i en feilfil i TSV-filformat.

Følgende logg- og feilfiler overføres til det endelige utdatamålet etter endt behandling:

- ▶ \*GlobalLog\*.tsv sammenfatter viktige kjøringshendelser.
- ▶ \*Error\*.tsv oppgir feil som oppsto under en kjøring.
- ▶ \*WarningLog\*.tsv oppgir advarsler som oppsto under en kjøring.

### Arbeidsprosess for sanntidsanalyse

Intensitetsekstraksjon	Bestemmer en intensitetsverdi for hver klynge.
+	
Phasing correction (Fasingkorrigering)	Korrigerer virkningene av fasing og prefasing.
Base calling (Basebetegnelse)	Bestemmer en basebetegnelse for hver klynge.
Quality scoring (Kvalitetsscoring)	Tilordner hver eneste basebetegnelse en kvalitetsscore.

## Intensitetsekstraksjon

Intensitetsekstraksjon beregner en intensitetsverdi for hver nanobrønn i et gitt bilde.

## Fasingkorrigering

Under sekvenseringsreaksjonen utvides hver DNA-tråd i et cluster med én base per syklus. Fasing og prefasing forekommer når en streng havner utenfor fase med den aktuelle inkorporasjonssyklusen.

- Fasing forekommer når en base havner på etterskudd.
- Prefasing forekommer når en base hopper fremover.

Figur 9 Fasing og prefasing



- A Avles med en base som er fasing
- B Avles med en base som er prefasing

RTA2 korrigerer virkningene av fasing og prefasing, noe som maksimerer datakvaliteten i hver syklus gjennom hele kjøringen.

### Basebetegnelse

Basebetegnelse bestemmer en base (A, C, G eller T) for hver klynge for en gitt flis ved en spesifikk syklus. iSeq 100-systemet bruker sekvensering med ett fargestoff, som krever ett fargestoff og to bilder for å kode data for de fire basene.

Intensiteter som ekstraheres fra ett bilde og sammenlignes med et andre bilde, gir fire distinkte populasjoner som hver tilsvarer en nukleotid. Basebetegnelse bestemmer hvilken populasjon hver klynge tilhører.





Base	Fargestoff i første bilde	Fargestoff i andre bilde	Konklusjon fra sammenlignede bilder
Т	På	På	Klynger som viser intensitet i begge bilder er T-baser.
A	På	Av	Klynger som kun viser intensitet i det første bildet, er A- baser.
С	Av	På	Klynger som kun viser intensitet i det andre bildet, er C- baser.
G	Av	Av	Klynger som viser intensitet i ingen av bildene, er G-baser.

#### Tabell 1 Basebetegnelser i sekvensering med ett fargestoff

### Klyngepasserende filter

Under kjøringen filtrerer RTA2 rådata for å fjerne avlesninger som ikke oppfyller datakvalitetsterskelen. Overlappende klynger og klynger av lav kvalitet, fjernes.

Når det gjelder sekvensering med ett fargestoff, bruker RTA2 et utfyllingsbasert system for å bestemme renheten (intensitetrenhetsmåling) for en basebetegnelse. Klynger passerer filter (PF) når ikke mer enn én basebetegnelse i de første 25 syklusene har en renhet under en fast terskel.

PhiX-innretting utføres ved syklus 26 på et delsett med fliser for klynger som passerte filter. Klynger som ikke passerer filter basebetegnes ikke, og justeres ikke.

### Indeksavlesninger

Prosessen for basebetegnelsesindeksavlesninger avviker fra basebetegnelsessekvenseringsavlesninger. De første to syklusene av en indeksavlesning kan ikke starte med to G-baser, fordi intensitet da ikke genereres. Hvis du vil sikre demultipleksytelse, må intensitet finnes i en av de første to syklusene.

Kontroller at *minst* én indeksadaptersekvens i en biblioteksammenslåing ikke starter med to G-baser. Velg balanserte indeksadaptersekvenser slik at det finnes signal i minst ett bilde (helst begge bildene) for hver syklus. Plateoppsettet og sekvensene som du finner i IDT for Illumina TruSeq UD-indekser er utformet for å ha riktig balanse.

Du finner mer informasjon om indeksering og sammenslåing i *Sammenslåingsveiledning for indeksadapter* (dokumentnr. 1000000041074).

## **Kvalitetsscoring**

MERK

En kvalitetsscore, eller Q-score, er en prediksjon av sannsynligheten for en feil basebetegnelse. En høyere Qscore innebærer at en basebetegnelse har høyere kvalitet og mer sannsynlig å være korrekt.

Q-score er en kompakt måte å kommunisere sannsynligheter for små feil. Q(X) representerer kvalitetsscorer, hvor X er scoren. Følgende tabell viser forholdet mellom kvalitetsscore og sannsynlighet for feil.

Q-score Q(X)	Sannsynlighet for feil
Q40	0,0001 (1 av 10 000)
Q30	0,001 (1 av 1 000)
Q20	0,01 (1 av 100)
Q10	0,1 (1 av 10)

## +

Kvalitetsscoring er basert på en endret versjon av Phred-algoritmen.

Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR

Kvalitetsscoring beregner et sett med prediktorer for hver basebetegnelse, og bruker deretter prediktorverdiene for å slå opp Q-scoren i en kvalitetstabell. Kvalitetstabeller opprettes for å gi optimalt nøyaktige kvalitetsprediksjoner for kjøringer som er generert av en spesifikk konfigurasjon av sekvenseringsplattform og kjemiversjon.

Etter at Q-scoren er fastslått, registreres resultater i basebetegnelsesfilene.

# Vedlegg B Feilsøking

Løse feilmeldinger	45
Avbryte en startet kjøring	46
Foreta en strømtilstandsendring for instrumentet	46
Utføre en systemkontroll	47
Lekkasjebegrensning	49
Gjenopprette til fabrikkinnstillinger	51

## Løse feilmeldinger

Dette vedlegget gir detaljert informasjon om diverse prosedyrer for feilsøking. Følgende flytskjema viser arbeidsflyten for feilsøkingsfeilmeldinger som vises under initialisering, kjøringsoppsett, kontroller før kjøring eller sekvensering som et nytt forsøk ikke løser.

Mange feil kan løses med en strømtilstandsendring: å slå av instrumentet og deretter starte det på nytt igjen. Andre krever en systemkontroll slik at problemet kan diagnostiseres og løses.





## Status for prosessbehandling

Slik feilsøker du et statusproblem i skjermbildet Process Management (Prosessbehandling):

- Hvis kjøringen pågår, lukker du skjermbildet Process Management (Prosessbehandling), venter i ca. fem minutter og åpner det på nytt.
- Hvis ikke kjøringen pågår, foretar du en strømtilstandsendring for instrumentet, og deretter åpner du skjermbildet Process Management (Prosessbehandling) på nytt. Se Foreta en strømtilstandsendring for instrumentet på side 46.

## Avbryte en startet kjøring

Etter at en kjøring starter kan du avbryte den for å avslutte kjøringen, støte ut kassetten og gå tilbake til skjermbildet Sequence (Sekvens).



### FORSIKTIG

Å avbryte en kjøring er **endelig**. Programvaren kan ikke gjenoppta kjøringen, og forbruksmateriell kan ikke brukes på nytt etter instrumentkontrolldelen av kontroller før kjøring.

- Velg Stop Run (Stopp kjøring), og velg deretter Yes, cancel (Ja, avbryt).
   Skjermbildet Sequencing Canceled (Sekvensering avbrutt) vises med tidsangivelser av datoen og klokkeslettet da kjøringen stoppet.
- 2 Åpne døren og støt ut brettet ved å trykke på Eject Cartridge (Støt ut kassett).
- 3 Fjern kassetten fra brettet.
- 4 Ta vare på eller kast kassetten, avhengig av når avbrytelsen skjedde:

Forhold	Instruksjon
Du avbrøt før eller under instrumentkontrollen, og ønsker å bruke forbruksmateriell på nytt.	La strømningscellen og biblioteket bli i kassetten, og sett den til side ved romtemperatur i opptil 1 time.
Alle andre forhold.	Fjern strømningscellen fra kassetten. Avhend begge komponenter i henhold til gjeldende lokale standarder. • Strømningscellen har elektroniske komponenter. • Kassetten inneholder brukte reagenser og bibliotek.

5 Last inn brettet på nytt og gå tilbake til skjermbildet Sequencing (Sekvensering) ved å velge **Close Door** (Lukk dør).

Sensorer bekrefter at kassetten er tatt ut.

## Foreta en strømtilstandsendring for instrumentet

Hvis du foretar en strømtilstandsendring for instrumentet, kan systemet trygt avsluttes og startes på nytt for å gjenopprette en tapt tilkobling, justere en spesifikasjon eller løse en initialiseringsfeil. Programvaremeldinger angir når du skal foreta en strømtilstandsendring for å løse en feil eller advarsel.

- 1 Velg Shut Down System (Avslutt system) i menyen.
- 2 Hvis ikke systemet avsluttes, trykker du på og holder inne av/på-knappen på venstre side av instrumentet til lyset tones ned.
- 3 Når av/på-knappen pulserer, trykker du på av-siden (**O**) av vekslebryteren på baksiden. Det kan hende at av/på-knappen fortsetter å pulsere etter at strømmen er slått av.

Figur 12 Veksleknappens plassering



- 4 Vent i 30 sekunder.
- 5 Trykk på på-siden (I) av vekslebryteren.
- 6 Når av/på-knappen pulserer, trykker du på den.

Figur 13 Av/på-knappens plassering



Når operativsystemet er lastet, logger du deg på Windows.
 Kontrollprogramvaren startes og initialiserer systemet. Startskjermbildet vises når initialiseringen er fullført.

## Utføre en systemkontroll

En systemkontroll tar omkring 45 minutter, og bruker teststrømningscellen til flergangsbruk og testkassetten til flergangsbruk når feil knyttet til kontroller før kjøring og andre problemer skal feilsøkes. Fire delsystemtester bekrefter om komponenter er riktig innrettet og fungerer som de skal.

Normal drift og vanlig vedlikehold krever ikke en systemkontroll.

1 Ta teststrømningscellen til flergangsbruk og testkassetten til flergangsbruk ut av oppbevaring ved romtemperatur.

Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR

- I kontrollprogramvaremenyen velger du System Check (Systemkontroll).
   Dialogboksen System Check (Systemkontroll) vises med de mekaniske, termiske, optiske og sensortestene valgt.
- 3 Åpne kassettkammerdøren og støt ut brettet ved å velge Unload (Last ut).
- 4 Hvis det står i en brukt kassett, fjerner du den fra brettet.
- 5 Undersøk glassoverflaten på strømningscellen til flergangsbruk med tanke på synlig smuss. Hvis du ser smuss, rengjør du på følgende måte.
  - a Rengjør glassoverflaten med en alkoholserviett.
  - b Tørk med en laboratorieserviett med lavt loinnhold.
  - c Kontroller at strømningscellen er fri for lo og fibre.

Under normale forhold er det ikke nødvendig å rengjøre teststrømningscellen til flergangsbruk.

- 6 Hold teststrømningscellen til flergangsbruk i gripepunktene med etiketten vendt opp.
- 7 Plasser teststrømningscellen til flergangsbruk i sporet på forsiden av testkassetten til flergangsbruk. Det høres et klikk som angir at strømningscellen er på plass. Når kassetten er lastet riktig inn, stikker grepet frem fra kassetten, og glasset er synlig fra tilgangsvinduet.



- a Innlasting av teststrømningscellen til flergangsbruk
- b Innlastet teststrømningscelle til flergangsbruk
- 8 Plasser testkassetten til flergangsbruk på brettet slik at tilgangsvinduet vender opp og strømningscellen er inne i instrumentet.



- 9 Velg Load (Last inn) for å laste inn testkassetten til flergangsbruk og lukke døren.
- 10 Start systemkontrollen ved å velge Start.

Under systemkontrollen vil programvaren støte ut og trekke inn kassetten én gang og vise gjenværende antall bruk på skjermen. Begge testkomponenter til flergangsbruk er gyldige for opptil 130 gangers bruk.

Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR

11 Når systemkontrollen er fullført, går du gjennom hver test for å se om den er bestått.

Resultat	Angivelse	Tiltak
Alle fire tester er bestått	Instrumentet fungerer som det skal, og problemet er sannsynligvis knyttet til forbruksmateriell eller bibliotek.	Konfigurer en ny kjøring. Hvis du tok vare på forbruksmateriell fra den forrige kjøringen, bruker du det til den nye kjøringen.
Minst én test besto ikke	Instrumentet kan ha en maskinvarefeil.	Kontakt Illuminas tekniske støtte.

- 12 Støt ut testkassetten til flergangsbruk ved å velge Unload (Last ut).
- 13 Fjern testkassetten til flergangsbruk fra brettet.
- 14 Fjern teststrømningscellen til flergangsbruk fra kassetten.
- 15 Legg testkomponentene til flergangsbruk tilbake i originalemballasjen, og oppbevar dem ved romtemperatur.
- 16 Lukk dialogboksen System Check (Systemkontroll).

### Lekkasjebegrensning

Ved en dårlig væsketilkobling, et kassettproblem eller hvis det påvises en lekkasje under en kontroll før kjøring eller sekvensering, avslutter programvaren kjøringen og varsler deg. Etter at du har vurdert lekkasjen og rengjort instrumentet, bekrefter en systemkontroll at normal drift kan fortsette.

Et dryppbrett ved instrumentets sokkel fanger opp væske som lekker fra kassetten. Lekket væske kan imidlertid nå andre områder av systemet. Under normale forhold er dryppbrettet tørt.

### Vurdere lekkasjen

1 Ta på et nytt par pudderfrie hansker.



### ADVARSEL

Dette reagenssettet inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert vernebriller, hansker og laboratoriefrakk som er egnet ved risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter. Hvis du ønsker ytterligere informasjon om helse, miljø og sikkerhet, kan du se mer på support.illumina.com/sds.html.

- 2 Følg ledeteksten i skjermbilder for å støte ut kassetten.
- Undersøk kassetten med tanke på synlig væske.
   En liten mengde væske (< 500 µl) på strømningscellens glassoverflate er akseptabelt.</li>
- 4 Hvis du ikke ser noe væske (eller en akseptabel væskemengde), går du videre til *Rengjøre instrumentet*. Etter rengjøring bekrefter en systemkontroll normal drift.
- 5 Hvis en betydelig væskemengde er synlig på strømningscellen, kassetten eller instrumentet, avslutter du og kobler fra som beskrevet og kontakter Illuminas tekniske støtte.
  - a Velg Shut Down System (Avslutt system) i menyen.
  - b Hvis kommandoen for å avslutte ikke svarer, trykker du på og holder inne av/på-knappen på venstre side av instrumentet til lyset tones ned.
  - c Når av/på-knappen pulserer, trykker du på av-siden (O) av vekslebryteren på baksiden av instrumentet.

Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR

- d Vent i 30 sekunder.
- e Koble strømledningen fra stikkontakten, og deretter fra vekselstrøminntaket på baksiden.
- f Hvis det er aktuelt, kobler du Ethernet-kabelen fra stikkontakten og deretter fra Ethernet-porten på baksiden.

### Rengjøre instrumentet

- 1 Slå for sikkerhets skyld av og koble fra instrumentet:
  - a Velg Shut Down System (Avslutt system) i menyen.
  - b Hvis kommandoen for å avslutte ikke svarer, trykker du på og holder inne av/på-knappen på venstre side av instrumentet til lyset tones ned.
  - c Når av/på-knappen pulserer, trykker du på av-siden (O) av vekslebryteren på baksiden av instrumentet.
  - d Vent i 30 sekunder.
  - e Koble strømledningen fra stikkontakten, og deretter fra vekselstrøminntaket på baksiden.
  - f Hvis det er aktuelt, kobler du Ethernet-kabelen fra stikkontakten, og deretter fra Ethernet-porten på baksiden.
- 2 Finn dryppbrettdøren under kassettkammeret på forsiden av instrumentet, og senk deretter døren.



3 Åpne dryppbrettet, og fjern dryppbrettputen.



- 4 Tørk bort eventuell restvæske fra bunnen av brettet med tørkepapir.
- 5 Kast puten og annet forbruksmateriell i henhold til regionale standarder. Du finner mer informasjon i sikkerhetsdatabladet på support.illumina.com/sds.html.
- 6 Plasser en ny pute på dryppbrettet.
- 7 Lukk dryppbrettet, og lukk deretter dryppbrettdøren.
- 8 Tørk bort eventuell synlig væske på eller rundt instrumentet med tørkepapir.
- 9 Slå på og koble instrumentet til på nytt på følgende måte.
  - a Hvis det er aktuelt, kobler du Ethernet-kabelen til en Ethernet-port.
  - b Koble strømledningen til strøminntaket på baksiden og deretter til en stikkontakt.
  - c Trykk på på-siden (I) av vekslebryteren på baksiden.
  - d Når av/på-knappen pulserer, trykker du på den.
  - e Når operativsystemet er lastet, logger du deg på Windows.

Kontrollprogramvaren startes og initialiserer systemet. Startskjermbildet vises når initialiseringen er fullført.

10 Ved hjelp av en systemkontroll bekrefter du at systemet fungerer som det skal. Hvis instrumentet består systemkontrollen, kan du bruke det som normalt. Du finner instruksjoner under Utføre en systemkontroll på side 47.

## Gjenopprette til fabrikkinnstillinger

Gjenopprett systemet til fabrikkinnstillinger når du vil nedgradere programvaren, gjenopprette fra en uønsket konfigurasjon eller fjerne brukerdata før du returnerer et instrument til Illumina. Når du gjenoppretter systemet, avinstalleres kontrollprogramvare, og stasjon C tømmes.

- 1 Hvis referansegenomdatabasen for Local Run Manager befinner seg på stasjon C:
  - a Flytt databasen til D:\Illumina\Genomes eller en annen lokal mappe eller nettverksmappe som ikke er på stasjon C.
  - b I Local Run Manager tilbakestiller du databasebanen til D:\Illumina\Genomes eller en annen lokal mappe eller nettverksmappe som ikke er på stasjon C. Du finner instruksjoner i *Veiledning for Local Run Manager-programvare (dokumentnr. 100000002702)*.
- 2 Start Windows på nytt.
- 3 Når du blir bedt om å velge et operativsystem, velger du **Gjenopprett til fabrikkinnstillinger**. Operativsystemalternativene vises et kort øyeblikk før det automatisk fortsettes med iSeqkontrollprogramvare.
- 4 Vent i ca. 30 minutter mens gjenopprettingen fullføres. Gjenopprettingen kan innbefatte flere omstarter. Når den er fullført, starter systemet på nytt med de opprinnelige fabrikkinnstillingene, uten kontrollprogramvaren.
- 5 Installer kontrollprogramvaren:
  - Last ned installasjonsprogrammet for programvare fra støttesidene for iSeq 100sekvenseringssystem. Lagre installasjonsprogrammet til en nettverksplassering eller bærbar USBstasjon.
  - b Kopier installasjonsprogrammet til C:\Illumina.
  - c Åpne iSeqSuiteInstaller.exe, og gjør det du blir bedt om for å utføre installasjonen.

- d Når oppdateringen er fullført, velger du Finish (Fullfør).
- e Foreta en strømtilstandsendring for instrumentet. Du finner instruksjoner i *Foreta en strømtilstandsendring for instrumentet* på side 46.
- 6 Følg meldingene i skjermbildet når du skal utføre førstegangs oppsett, deriblant systemkontrollen med testkassetten for flergangsbruk og teststrømningscellen for flergangsbruk.
- 7 Installer eventuelle Local Run Manager-analysemoduler:
  - a Bytt til sbsadmin-operativsystemkontoen.
  - b Last ned installasjonsprogrammene for programvare fra støttesidene for Local Run Manager. Lagre installasjonsprogrammene til en nettverksplassering eller bærbar USB-stasjon.
  - c Kopier installasjonsprogrammet til C:\Illumina.
  - d Åpne installasjonsprogrammet (\*.exe), og gjør det du blir bedt om for å utføre installasjonen.
  - e Når oppdateringen er fullført, velger du Finish (Fullfør).

# Vedlegg C Avansert bytte

Innledning	53
Motta et erstatningssystem	53
Klargjøre det originale systemet for retur	53
Returnere det originale systemet	56

## Innledning

Ettersom luftfilteret og dryppbrettputen er de eneste delene som kan repareres i iSeq 100-systemet, bruker Illumina avansert bytte for å utbedre problemer som ikke kan løses eksternt.

Avansert bytte erstatter et skadet eller defekt system med et renovert system. Du vil motta erstatningssystemet før du sender originalen tilbake slik at nedetiden minimeres.



## Regional tilgjengelighet

Avansert bytte er tilgjengelig i de fleste regioner. Andre regioner kan fortsette å motta støtte fra serviceingeniører. Spør Illuminas tekniske støtte om hvilke støttemodeller som er tilgjengelige i regionen din.

## Motta et erstatningssystem

- 1 Etter at en systemkontroll og andre forsøk på feilsøking har mislyktes, kontakter du Illuminas tekniske støtte.
  - Om mulig kan du utføre en ny systemkontroll med en annen testkassett til flergangsbruk og teststrømningscelle til flergangsbruk.
  - Gjør resultatene av systemkontrollen tilgjengelige for teknisk støtte.

Hvis den tekniske støtten ikke kan løse problemet eksternt, iverksetter de en retur og legger inn en bestilling på et erstatningssystem.

- 2 Når du mottar erstatningssystemet:
  - Pakk ut og installer i henhold til Oppsettplakat for iSeq 100-sekvenseringssystem (dokumentnr. 1000000035963).
  - Ta vare på all emballasjen som brukes til å emballere det originale systemet og testkomponentene til flergangsbruk for retur.
  - Legg til side returdokumentene, som omfatter en UPS-returetikett og en handelsfaktura for internasjonale forsendelser.

## Klargjøre det originale systemet for retur

Returner det originale systemet, testkassetten til flergangsbruk og teststrømningscellen til flergangsbruk til Illumina innen 30 dager etter at du har mottatt erstatningsproduktet.

Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR

## Tømme data og slå av

- 1 Hvis systemet er på, kan du lagre og tømme data på følgende måte.
  - a I Filutforsker kopierer du eventuelle filer og mapper som du vil lagre til en bærbar USB-stasjon.
  - b Slett eventuelle filer og mapper som du ikke vil dele med Illumina.

Plasseringen til sekvenseringsdata er brukerdefinert, men stasjon D er standardplasseringen.

- 2 Avslutt systemet på følgende måte.
  - a Velg Shut Down System (Avslutt system) i menyen.
  - b Hvis kommandoen for å avslutte ikke svarer, trykker du på og holder inne av/på-knappen på venstre side av instrumentet til lyset tones ned.
  - c Når av/på-knappen pulserer, trykker du på av-siden (O) av vekslebryteren på baksiden av instrumentet.

## Koble fra ledninger og kabler

- 1 Hvis det står en kassett i instrumentet, starter du systemet på nytt og fjerner kassetten på følgende måte.
  - a Trykk på på-siden (I) av vekslebryteren på baksiden.
  - b Når av/på-knappen pulserer, trykker du på den.
  - c Når operativsystemet er lastet, logger du deg på Windows.
  - d I kontrollprogramvaremenyen velger du System Check (Systemkontroll).
  - e Støt ut kassetten ved å velge Unload (Last ut), og deretter fjerner du kassetten fra brettet.
  - f Hvis utstøtingen mislykkes, må du kontakte Illuminas tekniske støtte for nærmere instruksjoner.
  - g Velg Load (Last inn) slik at det tomme brettet trekkes inn og døren lukkes.
  - h Lukk avmerkingsboksen System Check (Systemkontroll), og deretter avslutter du systemet.

Det er nødvendig å avslutte og starte systemet på nytt for å posisjonere kassetten for fjerning.

2 Koble strømledningen fra stikkontakten, og deretter fra vekselstrøminntaket på baksiden.



- 3 Gjør følgende hvis det er relevant.
  - Koble Ethernet-kabelen fra stikkontakten, og deretter fra Ethernet-porten på baksiden.

Dokumentnr. 100000036024 v07 NOR

▶ Koble tastaturet og musen fra USB-portene på baksiden.

### Dekontaminere instrumentet

Når et instrument skal sendes, må det gjennom følgende dekontamineringsprosedyre, som Illumina bekrefter er komplett. Systemer som brukes på et laboratorier med nivå 2 eller 3 for biologisk sikkerhet, og stedsspesifikke farer kan kreve ytterligere dekontaminering.

### Dekontaminere med klor

- 1 Ta på et nytt par pudderfrie hansker.
- 2 Senk instrumentets monitor.
- 3 Dra kassettkammerdøren forsiktig fra sidekantene for å åpne den.



- 4 Rengjør hele kammerdøren med en klorserviett:
  - Dørens innside
  - Dørens utside
  - ▶ Dørhengslene
- 5 Lukk kassettkammerdøren.
- 6 Finn dryppbrettdøren under kassettkammeret på forsiden av instrumentet, og senk deretter døren.



7 Åpne dryppbrettet, og fjern dryppbrettputen.



- 8 Tørk bort eventuell restvæske fra bunnen av brettet med tørkepapir.
- Kast puten og annet forbruksmateriell i henhold til regionale standarder.
   Du finner mer informasjon i sikkerhetsdatabladet på support.illumina.com/sds.html.
- 10 Rengjør dryppbrettet med en klorserviett.
- 11 Vent i 15 minutter slik at kloret får virke.

### Nøytralisere med alkohol

- Fukt en klut eller tørkepapir med vann.
   Du kan bruke alle typer vann, også springvann.
- 2 Tørk over følgende komponenter med den fuktige kluten eller tørkepapir:
  - Dryppbrett
  - Kassettkammerdør (innvendig og utvendig, inkludert hengsler)
     Vannet forhindrer at klor og alkohol blandes.
- 3 Rengjør følgende komponenter på nytt med en alkoholserviett:
  - Dryppbrett
  - Kassettkammerdør (innvendig og utvendig, inkludert hengsler)

Alkoholen fjerner rester av klor, som kan forårsake korrosjon.

- 4 Kontroller at dryppbrettdøren og kassettkammerdøren er lukket.
- 5 Rengjør laboratoriebenken rundt instrumentet med klorservietter eller kloroppløsning.

## Returnere det originale systemet

### **Emballere instrumentet**

1 Gjør klar tilstrekkelig plass i laboratoriet til instrumentet og emballasjen.

- 2 Plasser den lille skumputen mellom den senkede monitoren og instrumentet.
- 3 Plasser den grå plastposen over instrumentet.



- 4 Senk den fremre klaffen på den hvite esken.
- 5 Plasser instrumentet i den hvite esken slik at forsiden av instrumentet vender mot deg.
- 6 Plasser den firkantede skumbiten over instrumentet slik at de tynnere sidene av skumbiten hviler mot forsiden og baksiden av instrumentet. Kontroller at skumbiten er i flukt med toppen av esken.



7 Lukk den fremre klaffen, og lukk deretter toppen av esken.

### Emballere testkomponentene til flergangsbruk

- 1 Plasser iSeq 100-testkassetten til flergangsbruk i den største gjenlukkbare posen, og forsegl den.
- 2 Plasser iSeq 100-teststrømningscellen til flergangsbruk i oppbevaringskofferten.
- 3 Plasser kofferten i den minste gjenlukkbare posen, og forsegl den.

4 Plasser begge de gjenlukkbare posene i tilbehørsesken for iSeq 100-sekvenseringssystem.



5 Lukk tilbehørsesken.

## Sende systemet

1 Hvis den ble fjernet, plasserer du den beskyttende skumbasen i bunnen av den brune fraktesken.



2 Løft den hvite esken etter håndtakene (det anbefales at to personer løfter sammen), og senk deretter den hvite esken ned i den brune esken. Den kan plasseres i hvilken som helst retning.



### FORSIKTIG

Den hvite esken må sendes inni den brune esken. Den hvite esken er ikke utformet eller merket for forsendelse.

- 3 Plasser det beskyttende skumlokket over den hvite esken.
- 4 Plasser tilbehørseskene i midten av skumlokket.
- 5 Plasser den svarte skumputen oppå tilbehørseskene.
- 6 Hvis Illumina Technical Support ba deg om å returnere strømledningen, kan denne plasseres hvor som helst i den brune esken.
- 7 Lukk den brune esken, og forsegle den med fraktteip.

8 Plasser returetiketten over den opprinnelige forsendelsesetiketten, eller fjern den opprinnelige forsendelsesetiketten.



- 9 [Internasjonal forsendelse] Fest handelsfakturaen til fraktesken.
- 10 Send instrumentet til Illumina via UPS.
  - Hvis laboratoriet har en daglig leveringsavtale med UPS, leverer du den adresserte fraktesken til sjåføren.
  - Hvis laboratoriet ikke har en daglig leveringsavtale med UPS, varsler du Illuminas kundetjeneste slik at de kan planlegge returforsendelsen for deg.

# Indeks

## %

% fyllingsgrad 28-29, 31-32 % klynge-PF 28-29, 31-32 % PF 20, 28-29, 31-32, 43

# A

adapteralternativer, Wi-Fi 17 adaptersekvenser 14, 29 administratorkonto 11 advarsler 6, 41, 46 alkoholservietter 18 alternativer for dataanalyse 11, 13 AmpliSeg Library PLUS for Illumina 20 analyse fremgangsmåter 5, 20 status 7 utenfor instrument 20 utformina 1 analyse utenfor instrumentet 20 arbeidsgrupper 27, 30 audioinnstillinger 15 automatisk kjøringsstart 28, 31 automatiske oppdateringer 33 av/på-knapp 3, 37, 46 avbildning 20 avlesningslengder 21 avlesningssykluser 30 avlesningstyper 21, 30 avslutte 37, 46, 49-50, 54 avslutte kjøringer 46

## B

baner, strømningscelle 8
basebetegnelse 5, 20, 43
basebetegnelsesfiler 20, 39
basediversitet 43
baser, datakoding 42
BaseSpace Sequence Hub 1

filopplasting 7
hurtiginnstillinger 11
krav til prøveark 14

BCL-filer 6, 39
bcl2fastq2-konverteringsprogramvare 39
bestå systemkontroll 47
bibliotekbeholder 25

biblioteker 1, 8, 20 oppbevare 1 nM 22 startkonsentrasjoner 22 biblioteker.denaturere 20 bibliotekklargjøringssett 1, 20 bildeanalyse 5 bilder 15, 39, 41-42 bleke 55 blekemiddelservietter 18 brett 4 brukerkonto 11 bruksgrenser, testkomponenter til flergangsbruk 5 brukte reagenser 4, 8 BSL-2 55 BSL-3 55

# С

Chromium tom skjerm 26 åpne 26 CMOS-sensorer 8, 25, 40

## D

datamaskinnavn 6 datasletting 54 delenumre 10 deler som kan repareres 53 delsystemer 47 demping 15 demultipleksingsytelse 43 denaturere 20 denatureringsbiblioteker 20, 22 DesianStudio 1 diagnostikk 47 diskplass 6, 33 dobbeltstrengede biblioteker 22 dokumentasjon 1, 66 domener 13 dryppbrett 49 dør 50, 55 plassering 50, 55 puter 18, 53 dører 55 lukke 27. 30 utforming 4

## E

**EEPROM 8** ekstern tilgang 26 eksterne stasjoner 16 ekstra sykluser 21 elektrisk grensesnitt 8, 25 elektronisk avfall 29, 32, 46 emballasje avhending 25 kassett 21 returforsendelser 53 strømningscelle 25 enkel avlesning 27, 30 Enterprise-abonnementer 13 erstatning 17 Ethernet 3, 36 Ethernet-kabel 50, 54 Ethernet-port 50, 54 Ethernet, slå på 17 etiketter 9

## F

fabrikkinnstillinger 51 fanen Customization (Tilpasning) 11, 14 fanen Network Access (Nettverkstilgang) 11, 16 fanen Settings (Innstillinger) 11 farlige kjemikalier 10, 29, 32 fasing 42 fasing og prefasing 21 FASTQ-filer 29, 39 fastvareoppdateringer 34 feil 6, 41, 46 meldinger 45 sannsynlighet 43 filkonvertering 39 filterfiler 39 filtrere klynger 43 fjernovervåking 27, 30 fliser 39 flytte 3, 36 forbruksmateriell avhending 29, 32 bruke på nytt 28, 31 emballasje 10 skanning 27, 30 spore 1 sporing 8 forbruksmateriellkammer 3

formamid 29, 32 forsendelsesetiketter 58 forsterkning 20 fortynne biblioteker 20 fryse/tine-sykluser 21 fryserspesifikasjoner 18 fyllingsgrad 20 førstegangs oppsett 35, 51

## G

G-baser 43 garanti 18 gjenoppta kjøringer 46 grenser for bruk, testkomponenter til flergangsbruk 47 gripepunkter 8, 25

## Η

handelsfaktura 58 harddisk 6, 33 Hjelp-ikon 29 hjelp for Windows 10 17 hjelp, teknisk 66 hvit eske 56

## L

i5-indeksadaptere 30 i5-retninger 29 i7-indeksadaptere 30 IDT for Illumina TruSeg UD-indekser 43 ikke bestå systemkontroll 47 ikoner 6, 10 ikonet hjelp 26 Illumina proaktiv støtte 11, 13 illuminator 8 indeks sykluser 9 indeks 2-retninger 29 indekser adaptersekvenser 43 avlesninger 30 indekssykluser 21 initialisere 51 initialisering 37, 47 feil 46 innlastingsretning 27, 30

innstillinger førstegangs oppsett 11 redigering 12-13 innstillinger for hurtigoppsett 11 installasjonsprogram for System Suite 33 installere programvare 33 instrument installasjon 53 vekt 36 instrumentkontroll 28, 31 intensiteter 41-42 internasjonale forsendelser 58 interne stasjoner 16 InterOp-filer 39 IP-adresser 6 iSeq 100 i1-reagenser 17

# K

kallenavn 14 kassett 27, 30, 46 avhending 29, 32, 46 emballasje 21 oppbevare 7 sitte fast i instrument 54 kassett som sitter fast 54 kassettbrett 4 katalognumre 17 kjøleskapsspesifikasjoner 18 kjør oppsett konfigurasjonsalternativer 13 kjøringer 33 kontrollere status 6, 28-29, 31-32 lagre i BaseSpace Sequence Hub 11 lagring i BaseSpace Sequence Hub 13 overvåking i BaseSpace Sequence Hub 11, 13 redigere parametere 27 størrelse på 15 telle 6, 40 kjøringsmappe 16, 33, 40 kjøringsnavn 30 kjøringsoppsett 26 konfigurere alternativer 11 skjermbilder 29 klargjøre sted 16, 36 klargjøring av sted 2, 56 klyngeplasseringer 39 klynger 20 filtrere 43 koble fra 50

koble til på nytt 51 kommandolinjer 17 konfigurasjonsfiler 39 konfigurasjonsinnstillinger 41 kontotyper 11 kontrollbiblioteker 11 kontrollfeil før kjøring 47 konvertere filer 39 korrosjon, forhindre 56 kundestøtte 66 kvalitetskontroll, biblioteker 22 kvalitetsabeller 43 kvalitetstabeller 43

### L

labfrakk 21 lastekonsentrasjoner 20 lekkasje 49 Local Run Manager 5 dokumentasjon 1, 27 ekstern tilgang 26 hurtiginnstillinger 11 moduler 33 nedlastinger 33 opprette kjøringer 26 prøveark opprette 14 status 7 veiledninger for arbeidsflyt 27 Local Run Manager-modus, om 26 loggfiler 41 lokal analyse 1 lokaliserte innstillinger 12-13 lotnumre 10 luftfiltre 53 ekstra 18 plassering 35 lydinnstillinger 14-15 lyslinje 3

## Μ

maksimalt antall sykluser 21 maksimere kontrollprogramvare 11 mal, prøveark 14 maler, prøveark 29 Manuell modus FASTQ-filer 39 om 29

manuell modus, FASTQ-filer 29 manuelle programvareoppdateringer 33 miniatyrbilder 15 miniatyrbilder, lagre 14 minste antall sykluser 21 monitor 3 mus 3, 11 mønstrede strømningsceller 8

## Ν

nanobrønner 41 navngi datamaskinnavn 6 instrumentkallenavn 14 prøveark 14 nedgradere programvare 51 nettverk 16 retningslinjer 16 Nextera DNA Flex 20 Nextera Flex for Enrichment 20 NGS 1 normaliseringsmetoder 22 nukleotider 20, 42

# 0

operativsystem 37, 47, 51 oppbevare 46 fortynnede biblioteker 22 reagenssett 7 oppbevaring 21 oppbevaringsforhold 7, 10 oppnå tilgang til 11 oppsettplakat 2, 53 oppskrifter, programvare 33 oppskriftsfragmenter 6 optimalisere 20 optimalisere lastekonsentrasjon 20 optisk sensor 8

## Ρ

paired-end 27, 30 pakke 58 pakke ut 53 pakninger 25 partikode 10 passerende filtre 20, 28-29, 31-32

personlig verneutstyr 21 PF 43 PhiX 11, 17-18 PhiX-innretting 43 Phred-algoritme 43 planlagt total produksjonsmetrikk 28-29, 31-32 prefasing 42 private domener 13 Process Management (Prosessbehandling) 28-29.31-32 produksjonsmetrikk 28-29, 31-32 produsent 10 programvare installere 33 nedgradere 51 oppdatere innstillinger 14-15 oppdateringsvarsler 34 reagenskompatibilitet 9 programvareserie 1, 5 programvareversjoner 9 prosent fyllingsgrad 20, 28-29, 31-32 prosess ikke fullført 45 prosess stoppet 45 prosessbehandling 33 prøveark 27, 29-30, 41 maler 14, 29 navngi 14 prøvemanifest 41 puter 18, 50, 55

# Q

Q-scorer 28-29, 31-32, 43 Q30 28-29, 31-32

## R

reagenser 7-8 avhending 29, 32, 46 oppbevare 7 programvarekompatibilitet 9 reagenssett 7 redigere kjøringsparametere 27 Registry Editor (registerredigering) 34 Registry Editor (Registerredigering) 34 rengjøre strømningsceller 47 renhetsmålinger 43 renovering 53 reservedeler 35 resuspensjonsbuffer 17, 22

### returer

dokumenter 53 frister 53 returetiketter 58 RFID 2, 8 RSB 17 RSB-erstatning 22 RunInfo.xml 39

### S

sammenslåingsveiledning 43 sbsadmin kontra sbsbruker 11 sekvensering arbeidsprosess 1 avlesninger 9 sykluser 9 sekvensering med ett fargestoff 20, 42-43 sende systemer i retur 53 sensorer 46 Sequencing Analysis Viewer 39 serienumre 6, 40 serviceingeniører 53 sett 7, 17 katalognumre 18 sikkerhet og samsvar 2 sikkerhetsdatablad 29, 32, 49-50, 55 skjermbilder 26 skybasert analyse 1 slette kjøringer 6, 33 slå av 49-50, 54 spesifikasjonsinnretting 46 spore forbruksmateriell 1, 8 standard utdatamappe 16, 27 standardinnstillinger 16 starte på nytt 51 startkonsentrasjoner 22 stasjon C 16, 51 stasjon D 6, 16, 33, 54 statuslinje 3 stikkontakt 50, 54 stoppe kjøringer 46 strømledning 3, 36, 50, 54 strømningsceller antall sykluser 9 avhending 29, 32 baner 8 oppbevare 7 strømningskontroll 28, 31 strømtilstandsendring 17, 28, 31, 45 størrelse på 33

støttemodeller 53 støttesider, nettsted 33 System Settings (Systeminnstillinger) 11, 14 systemkontroller 45, 49, 51 resultater 47 varighet 47

## Т

tapte tilkoblinger 46 tastaturer 3, 11 teknisk hjelp 66 testkassett til flergangsbruk 47, 53 testsett 18 testsett for iSeg 100-system 18, 47 teststrømningscelle til flergangsbruk 47, 53 tilbehørseske 57 tilgangsvindu, kassett 8 Tilpasset protokollvelger 2 tinte kassetter 21 tom skierm. Chromium 26 trinn i instrumentet 20 TruSeg DNA Nano 20 TruSeg DNA PCR-Free 20 TSV-filformat 41 tørris 21

## U

Universal Copy Service 5, 7, 16, 33 UPS 58 USB-porter 3, 34 utdatamappe 7, 11, 27, 30, 33, 39 standardplassering 16, 40 utløpsdatoer 10, 35

## V

vannbad 21 varsler 33-34 vasker 8 vekselstrøm inntak 3 uttak 36, 50, 54 vekslebryter 3, 37, 46 vekt 36 vernebriller 21 vertsplasseringer 12-13 vifter 35 væsker 8
væsker, lekkede 49

### W

Wi-Fi, slå på 17 Windows innstillinger 17 konti 11 pålogging 37, 47, 51 Windows-oppgavelinje 11

## Y

ytelsesdata 27, 30

## Å

åpne manuelt 55

# Teknisk hjelp

Kontakt teknisk støtte hos Illumina for teknisk hjelp.

Nettsted:	www.illumina.com
E-post:	techsupport@illumina.com

### Telefonnumre til Illuminas kundestøtte

Region	Gratis	Regionalt
Nord-Amerika	+1.800.809.4566	
Australia	+1.800.775.688	
Belgia	+32 80077160	+32 34002973
Danmark	+45 80820183	+45 89871156
Finland	+358 800918363	+358 974790110
Frankrike	+33 805102193	+33 170770446
Hongkong, Kina	800960230	
Irland	+353 1800936608	+353 016950506
Italia	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800.111.5011	
Kina	400.066.5835	
Nederland	+31 8000222493	+31 207132960
New Zealand	0800 451 650	
Norge	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
Østerrike	+43 800006249	+43 19286540
Singapore	+1.800.579.2745	
Sør-Korea	+82 80 234 5300	
Spania	+34 911899417	+34 800300143
Storbritannia	+44 8000126019	+44 2073057197
Sveits	+41 565800000	+41 800200442
Sverige	+46 850619671	+46 200883979
Taiwan, Kina	00806651752	
Tyskland	+49 8001014940	+49 8938035677
Andre land	+44 1799 534 000	

Sikkerhetsdatablad – Tilgjengelige på Illuminas nettsted på support.illumina.com/sds.html. Produktdokumentasjon – Tilgjengelig for nedlasting fra support.illumina.com.

### 

Illumina 5200 Illumina Way San Diego, California, 92122 USA +1 800 809 ILMN (4566) +1 858 202 4566 (utenfor Nord-Amerika) techsupport@illumina.com www.illumina.com

Kun til forskningsbruk. Ikke til bruk ved diagnostiske prosedyrer.

© 2020 Illumina, Inc. Med enerett.

## illumina