illumina

iSeq 100

Guia de Sequenciação do Sistema



Documento n.º 100000036024 v07 POR Abril de 2020 Apenas para efeitos de investigação. Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico. PROPRIEDADE DA ILLUMINA

Este documento e respetivo conteúdo são propriedade da Illumina, Inc. e das suas afiliadas ("Illumina") e destinam-se unicamente a utilização contratual por parte dos clientes relativamente à utilização dos produtos descritos no presente documento e para nenhum outro fim. Este documento e respetivo conteúdo não podem ser utilizados ou distribuídos para qualquer outro fim e/ou de outra forma transmitidos, divulgados ou reproduzidos por qualquer via, seja de que natureza for, sem a autorização prévia por escrito da Illumina. A Illumina não concede qualquer licença ao abrigo da sua patente, marca comercial, direito de autor ou direitos de jurisprudência nem direitos semelhantes de quaisquer terceiros por via deste documento.

As instruções contidas neste documento têm de ser estrita e explicitamente seguidas por pessoal qualificado e com a devida formação para garantir a utilização adequada e segura dos produtos aqui descritos. Todo o conteúdo deste documento tem de ser integralmente lido e compreendido antes da utilização dos referidos produtos.

A NÃO OBSERVÂNCIA DA RECOMENDAÇÃO PARA LER INTEGRALMENTE E SEGUIR EXPLICITAMENTE TODAS AS INSTRUÇÕES AQUI CONTIDAS PODE RESULTAR EM DANOS NOS PRODUTOS, LESÕES EM PESSOAS, INCLUINDO NOS UTILIZADORES OU OUTROS, E EM DANOS MATERIAIS, E IRÁ ANULAR QUALQUER GARANTIA APLICÁVEL AOS PRODUTOS.

A ILLUMINA NÃO ASSUME QUALQUER RESPONSABILIDADE RESULTANTE DA UTILIZAÇÃO INADEQUADA DOS PRODUTOS AQUI DESCRITOS (INCLUINDO PARTES DOS MESMOS OU DO SOFTWARE).

© 2020 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

Todas as marcas comerciais são propriedade da Illumina, Inc. ou dos respetivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.

Histórico de revisão

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento n.º 100000036024 v07	Abril de 2020	Foram adicionados conteúdos e informações de armazenamento para o conjunto de oito embalagens. Foram atualizados os volumes do banco e RSB nas instruções de diluição.
Documento n.º 100000036024 v06	Abril de 2020	 Foram atualizadas as descrições de software para o iSeq Control Software v2.0, que suporta o Reagente iSeq 100 i1 v2. Foi substituído o Reagente iSeq 100 i1 pelos seguintes kits: Illumina, catálogo n.º 20031371 para o Reagente iSeq 100 i1 v2. Illumina, catálogo n.º 20031374 para o Reagente iSeq 100 i1 v2. Illumina, catálogo n.º 20031374 para o Reagente iSeq 100 i1 v2. Illumina, catálogo n.º 20031374 para o Reagente iSeq 100 i1 v2. Illumina, catálogo n.º 20031374 para o Reagente iSeq 100 i1 v2. Illumina, catálogo n.º 20031374 para o Reagente iSeq 100 i1 v2. Imma adicionadas informações sobre a compatibilidade do reagente e software. Foram adicionadas as concentrações de carregamento para o Cartucho iSeq 100 i1 v2. Foram adicionadas as instruções de diluição para os bancos Nextera XT DNA. Foi adicionado o símbolo que indica a orientação correta de armazenamento do cartucho. Foi aumentado o tempo de descongelamento máximo do cartucho entre 2 °C e 8 °C para 1 semana. Foram atualizada a recomendação de pico de PhiX para os bancos com baixa diversidade para 10%. Foram atualizados os gráficos que ilustram o Cartucho iSeq 100 i1 v2. Foram atualizadas as instruções sobre a substituição avançada: Foi adicionado um fluxograma que ilustra a descrição geral do processo. Foram listados os documentos necessários para concluir a devolução. Recebeu esclarecimentos sobre como agendar uma recolha. Foi indicado que os laboratórios de biossegurança de nível 2 e 3 podem exigir uma descontaminação adicional. Foram transferidos os requisitos de palavra-passe e Políticas de restrição de software (SRP) para o <i>Guia de Preparação do Centro Clínico do Sistema de Sequenciação iSeq 100 (documento n.º 100000035337)</i>.

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento n.º 100000036024 v05	Março de 2019	 Descrições de atualizações de software para o iSeq Control Software v1.4: Instruções atualizadas sobre a configuração das definições do sistema, incluindo mover e mudar o nome de alguns elementos da interface do utilizador. Descrições adicionadas de %Clusters PF e métricas de %Ocupação, apresentadas no ecrã Sequencing (Sequenciação). Localizações de rede mapeadas e permitidas para as folhas de amostras e pastas de saída. Indicação de que o software muda automaticamente o nome das folhas de amostras para SampleSheet.csv. Ligações adicionadas às seguintes páginas: Modelo de folha de amostras do sistema iSeq 100 para o modo Manual. Páginas de suporte do software de Conversão bcl2fast. Foram adicionados os volumes de 1 nM 100% PhiX e AmpliSeq Library PLUS para preparação de bancos da Illumina. Foi adicionada a instrução para mover o repositório de genomas de referência do Local Run Manager para uma localização fora da unidade C, ao restaurar as definições de fábrica do sistema. Aumento do número máximo de ciclos recomendados para Index Read 1 (Índice Leitura 1) e Index Read 2 (Índice Leitura 2) para 10 ciclos cada. Aumento do número de ciclos suportados pelo cartucho para 322. Referência ao <i>Guia de otimização da densidade de clusters (documento n.º 100000071511)</i> para obter informações detalhadas sobre a otimização da concentração de carregamento.
Documento n.º 1000000036024 v05	Março de 2019	Ficou esclarecido que antes do descongelamento num banho de água, um cartucho tem de ser armazenado entre -25 °C e -15 °C durante, pelo menos, um dia. Correção de AmpliSeq para Illumina Library PLUS para AmpliSeq Library PLUS para Illumina.

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento n.º 100000036024 v04	Outubro de 2018	 Foram adicionadas recomendações de concentrações de carregamento e instruções de diluição para bancos Nextera DNA Flex for Enrichment, TruSeq DNA Nano e TruSeq DNA PCR-Free. Foram adicionadas informações sobre o método de normalização que não resulta em bancos de cadeia única. Foram adicionadas descrições dos dois modos de ensaio, Local Run Manager e Manual. Foi adicionada uma opção de 5% de pico de PhiX e foi definida a finalidade de cada percentagem de pico. Foram adicionados os seguintes passos: Mudar para a conta sbsadmin do sistema operativo ao instalar o software de controlo, módulos de análise e outro software. Realizar um ciclo de inicialização ao restaurar as definições de fábrica. Foram clarificados os seguintes pontos: Os cartuchos têm de ser usados imediatamente depois de serem descongelados. As concentrações de carregamento apresentadas para bancos Nextera DNA Flex e Nextera Flex for Enrichment não são aplicáveis para outros tipos de bancos Nextera. O SureCell WTA 3' não é um banco compatível.
Documento n.º 100000036024 v03	Agosto de 2018	 Descrições de atualizações de software para o iSeq Control Software v1.3: Foram adicionadas instruções de configuração para o Universal Copy Service. O nome do separador Network Configuration (Configuração de rede) foi alterado para Network Access (Acesso de rede). Foram adicionadas as instruções para abrir o Local Run Manager a partir do software de controlo. A localização da pasta de saída predefinida foi atualizada para D:\SequencingRuns. Foram adicionadas instruções para ligar o sistema a um servidor proxy. Foi adicionado o requisito para especificar um caminho UNC para as localizações da pasta de saída e folha de amostras na rede. Indicados os requisitos únicos para configurar a localização de uma pasta de saída numa unidade interna, unidade externa ou localização de rede. Foram criadas instruções para criar uma folha de amostras para o modo Manual, o primeiro passo da configuração do ensaio. Foram corrigidas as instruções sobre como utilizar o assistente de instalação do conjunto do sistema. Foi corrigida a descrição dos ficheiros de miniatura de saída.

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento n.º 100000036024 v02	Junho de 2018	Atualização de tubos utilizados para diluir bancos no Fisher Scientific, catálogo n.º 14-222-158 ou equivalentes de baixa ligação. Foi adicionada uma secção para descrever a disponibilidade regional da Substituição avançada. Foi clarificado que os bancos diluídos na concentração de carregamento têm de ser sequenciados nesse dia. Foi clarificado que o cartucho de reagente tem de ser removido da caixa para descongelar.
Documento n.º 100000036024 v01	Maio de 2018	 Descrições de atualizações de software para o iSeq Control Software v1.2: Adicionada a opção para procurar um programa de instalação transferido a partir do software de controlo. Foram adicionadas instruções para guardar miniaturas. As definições de rede foram movidas para o separador Network Configuration (Configuração de rede). Aumentado o número máximo de utilizações dos componentes de teste reutilizáveis para 36 e indicado que o número restante de utilizações é apresentado no ecrã. Informações atualizadas do Local Run Manager: Passos adicionados para abrir o Local Run Manager e definir o ensaio. Foi adicionado o RNA Amplicon como módulo de análise pré-instalado e DNA Enrichment e Resequencing como outros módulos suportados. Referências atualizadas de documentação para o <i>Guia do Software Local Run Manager (documento n.º 100000002702)</i>. Instruções atualizadas para descongelar cartuchos: Adicionada uma opção de descongelamento à temperatura ambiente. Formecidas instruções mais detalhadas sobre o banho com água, incluindo o armazenamento antes de descongelar. Instruções atualizadas para preparar bibliotecas para sequenciação: Foi atualizada a concentração inicial de carregamento para tipos de bancos não incluídos na lista. Informações adicionadas sobre a métrica de %Ocupada. Aumentado o volume de pico de PhiX 1 nM para 50 µl. Números de catálogo Illumina atualizados: Tapete do tabuleiro de recolha sobresselente iSeq 100 para 20023927. Filtro de ar sobresselente iSeq 100 para 20023927.

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Documento	Data	Descrição da alteração
		 Recomendações atualizadas de pipeta e ponta de pipeta. Foram adicionadas as seguintes instruções diversas: Executar ensaios de validação. Criar uma folha de amostras quando realizar a sequenciação no modo Manual. Minimizar o software de controlo para aceder a outras aplicações. Foram adicionados os seguintes passos ao procedimento de verificação do sistema: Descarregar e armazenar componentes de teste reutilizáveis. Limpar detritos visíveis da célula de fluxo de teste reutilizável. Foi reorganizado o seguinte conteúdo para melhorar a continuidade: Foram intercaladas as instruções para executar um ensaio apenas PhiX com as instruções padrão de sequenciação. Foram intercaladas as instruções de preparação da célula de fluxo com as instruções de diluição de bancos. Instruções consolidadas de pico de PhiX. Foram movidas as informações sobre o número de ciclos numa leitura. A Análise em tempo real foi movida e o nome foi alterado para <i>Saída de sequenciação</i>. Foi simplificado o diagrama do fluxo de trabalho das mensagens de erro. Foram removidas informações nos modos Tablet e Desktop. O sistema operativo é executado no modo Desktop por predefinição e o modo Tablet não é necessário. Foi removido o requisito para concluir e devolver um certificado de descontaminação para substituição avançada. Foi corrigido o tamanho de ensaio médio para 2 GB.
Documento n.º 100000036024 v00	Fevereiro de 2018	Edição inicial.

Índice

Capítulo 1 Descrição geral	1
Introdução	
Recursos adicionais	
Componentes do instrumento	
Reagente iSeq 100 i1	
Capítulo 2 Introdução	11
Primeira configuração	
Minimizar o software de controlo	
Definições do ensaio	
Personalização do instrumento	
Configuração de rede	
Consumíveis e equipamento fornecidos pelo utilizador	
Capítulo 3 Sequenciação	
Introdução	
Descongelar o cartucho embalado	
Preparar a célula de fluxo e os bancos	
Carregar consumíveis no cartucho	
Configurar um ensaio de sequenciação (Local Run Manager)	
Configurar um ensaio de sequenciação (modo Manual)	
Capítulo 4 Manutenção	
Limpar o espaço no disco rígido	
Atualizações de software	
Substituir o filtro de ar	
Deslocar o instrumento	
Apêndice A Saída de seguenciação	
Descrição deral da análise em tempo real	39
Fluxo de trabalho de análise em tempo real	
Apêndice B Besolução de problemas	45
Resolução de mensagens de erro	
Cancelar um ensaio iniciado	
Cielo de inicialização do instrumento	
Evecutar uma verificação do sistema	
Mitigação de fugas	47 ΛΩ
Restaurar para as definições de fábrica	
Anândias C. Substituição successo	
A STATE STATE STATE AND A STATE STATE STATE AND A STATE ST	50

Receber um sistema de substituição	53
Preparar o sistema original para devolução	54
Indice	. 61
Assistência técnica	67

Capítulo 1 Descrição geral

Introdução	. 1
Recursos adicionais	. 2
Componentes do instrumento	3
Reagente iSeq 100 i1	. 7

Introdução

O Sistema de Sequenciação iSeq[™] 100 Illumina[®] permite uma abordagem específica à sequenciação da próxima geração (NGS). Este sistema focado em aplicações transforma a tecnologia de sequenciação da Illumina num instrumento de secretária acessível.

Características

- Acessibilidade e fiabilidade O Sistema iSeq 100 tem dimensões reduzidas e é fácil de instalar e de utilizar. Os componentes fluídicos e de imagiologia estão integrados no consumível, simplificando a manutenção do instrumento.
- Carregamento de consumíveis em passo único—Um cartucho de única utilização é pré-enchido com todos os reagentes necessários para um ensaio. O banco e uma célula de fluxo equipada com sensor diretamente introduzidos no cartucho que é depois carregado no instrumento. A identificação integrada permite um controlo preciso.
- Software do Sistema iSeq 100—Um conjunto de software integrado controla as operações do instrumento, processa imagens e gera identificação de bases. Este conjunto inclui ferramentas de análise de dados no instrumento e de transferência de dados para análise externa.
 - Análise no instrumento—O Local Run Manager introduz informações da amostra e analisa os dados do ensaio com o módulo de análise especificado para o ensaio. O software inclui um conjunto de módulos de análise.
 - Análise baseada na nuvem O fluxo de trabalho de sequenciação está integrado no BaseSpace Sequence Hub, o ambiente de informática na nuvem da Illumina para monitorização do ensaio, análise de dados, armazenamento e colaboração. Os ficheiros de saída são transmitidos em tempo real para o BaseSpace Sequence Hub para análise.

Desde a amostra à análise

O diagrama seguinte ilustra o fluxo de trabalho de sequenciação completo, desde o design experimental à análise de dados. Estão incluídas as ferramentas e a documentação em cada passo. Este guia abrange o passo dos bancos de sequenciação. Para outra documentação, visite support.illumina.com.



Design do ensaio (Opcional) Crie painéis personalizados e específicos para os tipos de bancos suportados. Ferramenta: software DesignStudio Documentação: Ajuda online do DesignStudio

Introduzir as informações da amostra

Preencha uma tabela de amostras, selecione os índices e configure o ensaio de sequenciação. Ferramenta: software Local Run Manager Documentação: *Manual do software Local Run Manager*

Preparar bancos

Prepare bancos prontos para sequenciação para introdução da ADN ou ARN. Ferramenta: kit de preparação de bancos Documentação: o manual de referência do seu kit de preparação de bancos e o Manual de Pooling de Adaptadores de Índice

Bancos de sequenciação

Dilua bancos, prepare consumíveis de sequenciação e execute um ensaio. Ferramenta: Sistema iSeq 100 e Reagentes iSeq 100 i1 Documentação: este manual do sistema

Analisar dados

Analise os dados de saída de sequenciação localmente ou na nuvem. Ferramenta: Local Run Manager (software local) ou BaseSpace Sequence Hub (software baseado na nuvem) Documentação: *Manual do software Local Run Manager ou Ajuda online do BaseSpace Sequence Hub*

Recursos adicionais

As páginas de suporte do Sistema de Sequenciação iSeq 100 no sítio Web da Illumina fornecem recursos adicionais do sistema. Estes recursos incluem software, formação, produtos compatíveis e a seguinte documentação. Consulte sempre as páginas de suporte para obter as versões mais recentes.

Recurso	Descrição
Seletor de protocolo personalizado	Uma ferramenta para gerar instruções completas adaptadas ao método de preparação de bancos, parâmetros de execução e método de análise, com opções para refinar o nível de detalhes.
Cartaz de Configuração do Sistema de Sequenciação iSeq 100 (documento n.º 1000000035963)	Fornece instruções para a instalação do instrumento e para iniciar a configuração pela primeira vez.
Guia de Preparação do Centro Clínico do Sistema de Sequenciação iSeq 100 (documento n.º 1000000035337)	Fornece especificações de espaço no laboratório, requisitos elétricos e considerações ambientais e de rede.
Guia de Conformidade e Segurança do Sistema de Sequenciação iSeq 100 (documento n.º 1000000035336)	Fornece informações sobre considerações de segurança operacional, declarações de conformidade e etiquetas do instrumento.
Guia de Conformidade do Leitor RFID (documento n.º 100000002699)	Fornece informações sobre o leitor RFID no instrumento, incluindo certificações de conformidade e considerações de segurança.

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Componentes do instrumento

O Sistema de Sequenciação iSeq 100 é composto pelo botão de alimentação, monitor, barra de estado, compartimento de consumíveis e tabuleiro de recolha.





- A Botão de alimentação Controla a alimentação do instrumento e indica se o sistema está ligado (brilha), desligado (escuro) ou desligado com a alimentação de CA (pulsa).
- B Monitor tátil Permite a configuração no instrumento através da interface do software de controlo.
- C Barra de estado—Indica quando o sistema está pronto para sequenciação (verde), em processamento (azul) ou quando precisa de atenção (laranja).
- D Compartimento de consumíveis—Contém os consumíveis durante um ensaio.
- E Porta do tabuleiro de recolha Permite aceder ao tabuleiro de recolha, que recolhe os fluidos.

Alimentação e ligações auxiliares

Pode mover o instrumento para aceder às portas USB e a outros componentes do painel traseiro.

A parte traseira do instrumento tem o interruptor e a entrada que controla a alimentação do instrumento e uma porta Ethernet para ligação opcional à Ethernet. Duas portas USB fornecem a opção para ligar um rato e um teclado, ou para carregar e transferir dados com um dispositivo portátil.



NOTA

Se ligar o sistema a um teclado e rato irá substituir o teclado no ecrã.



- A Porta Ethernet-Ligação de cabo Ethernet opcional.
- B Portas USB Duas portas para ligar componentes auxiliares.
- C Interruptor-Ligar e desligar o instrumento.
- D Entrada de alimentação de CA-Ligação do cabo de alimentação.

Compartimento de consumíveis

O compartimento de consumíveis contém o cartucho para um ensaio de sequenciação.



Figura 4 Compartimento de consumíveis carregado

- A Cartucho—Contém a célula de fluxo, o banco e os reagentes, e recolhe os reagentes usados durante o ensaio.
- B Tabuleiro-Segura o cartucho durante a sequenciação.
- C Porta Abre a um ângulo de 60 graus para fornecer acesso ao compartimento de consumíveis.

O software abre e fecha a porta do compartimento e posiciona o cartucho para captura de imagens. A porta abre para a base do instrumento. Não coloque objetos na porta aberta, pois não foi concebida para ser utilizada como prateleira.

Cartucho e célula de fluxo de teste reutilizáveis

O instrumento é enviado com a Célula de fluxo de teste reutilizável iSeq 100 e o Cartucho de teste reutilizável iSeq 100 para utilizar em verificações do sistema. Guarde na embalagem original à temperatura ambiente e utilize até 130 vezes. Durante uma verificação do sistema, o software apresenta o número restante de utilizações.

Figura 5 Componentes de teste reutilizáveis



- A Célula de fluxo de teste reutilizável
- B Cartucho de teste reutilizável

Os componentes de teste reutilizáveis têm um aspeto semelhante aos componentes de sequenciação fornecidos no Reagente iSeq 100 i1 v2, e as orientações de carregamento são as mesmas. Contudo, o cartucho de teste não tem o reservatório do banco e nenhum componente de teste tem a química necessária para um ensaio.

Os componentes de teste reutilizáveis expiram 5 anos após a data de fabrico. Substitua os componentes de teste reutilizáveis expirados ou que tenham alcançado o número máximo de utilizações pelo kit de testes do Sistema iSeq 100.

Software do sistema

O conjunto do software do sistema inclui aplicações integradas que executam ensaios de sequenciação e análise no instrumento.

- iSeq Control Software Controla as operações do instrumento e fornece uma interface para configurar o sistema, configurar um ensaio de sequenciação e monitorizar estatísticas de ensaio à medida que a sequenciação avança.
- Local Run Manager—Define os parâmetros do ensaio e o método de análise antes da sequenciação. Após a sequenciação, a análise de dados no instrumento é iniciada automaticamente.
 - O sistema é enviado com os módulos de análise DNA Amplicon, RNA Amplicon e Generate FASTQ instalados.
 - O sistema também suporta os módulos de análise DNA Enrichment e Resequencing, que estão disponíveis nas páginas de suporte do Local Run Manager.
 - Para mais informações sobre o Local Run Manager e os módulos de análise, consulte o Guia do Software Local Run Manager (documento n.º 100000002702).
- Real-Time Analysis (RTA2) Executa uma análise de imagem e de identificação de bases durante o ensaio. Para mais informações, consulte Saída de sequenciação na página 39.
- Universal Copy Service Copia os ficheiros de saída da pasta do ensaio para o BaseSpace Sequence Hub (se aplicável) e para a pasta de saída, onde pode aceder aos mesmos.

Documento n.º 100000036024 v07 POR

O Real-Time Analysis e o Universal Copy Service executam apenas processos em segundo plano. O Local Run Manager e o software de controlo podem necessitar de introdução de dados por parte do utilizador.

Informações do sistema

O menu do software de controlo tem a secção About (Acerca de) onde pode visualizar as informações de contacto da Illumina e as seguintes informações do sistema:

- Número de série
- Nome do computador e endereço IP
- Versão de fragmento da receita
- Contagem do ensaio

Notificações e alertas

É apresentado um ícone junto ao nome do instrumento para indicar notificações. Selecione o ícone para ver a lista de notificações, que incluem avisos e erros.

- Os avisos requerem atenção, mas não interrompem um ensaio nem requerem ações além da confirmação.
- ▶ Os erros requerem ações antes de iniciar ou continuar um ensaio.

Um painel no lado esquerdo dos ecrãs de configuração do ensaio apresenta alertas específicos do carregamento do cartucho e de verificações pré-ensaio.

Figura 6 Localizações no ecrã



- A Alertas de configuração do ensaio
- B Outras notificações

Gestão de processos

O ecrã Process Management (Gestão de processos) apresenta o espaço no disco rígido (unidade D) e o estado do ensaio, identificando cada ensaio por nome, ID e data. O ecrã é atualizado automaticamente a cada três minutos.

A coluna Status (Estado) indica se um ensaio está em curso ou concluído, com base no processamento de ficheiros BCL. Para cada ensaio, o ecrã Process Management (Gestão de processos) também apresenta o estado dos processos em segundo plano do Universal Copy Service, do BaseSpace Sequence Hub e do Local Run Manager.

Os processos não aplicáveis não são apresentados no ecrã. Por exemplo, se um ensaio não estiver ligado ao BaseSpace Sequence Hub, o ecrã Process Management (Gestão de processos) não apresenta o estado do BaseSpace desse ensaio.

Documento n.º 100000036024 v07 POR

- Para resolver problemas de estado, consulte Estado da gestão de processos na página 45.
- Para eliminar ensaios e libertar espaço, consulte *Limpar o espaço no disco rígido* na página 33.

Estado do Universal Copy Service

O Universal Copy Service mostra o estado dos ficheiros que estão a ser copiados para a pasta de saída:

- ▶ In Progress (Em curso)—O Universal Copy Service está a copiar os ficheiros para a pasta de saída.
- Complete (Concluído) O Universal Copy Service copiou com sucesso todos os ficheiros para a pasta de saída.

Estado do BaseSpace Sequence Hub

O BaseSpace Sequence Hub mostra o estado de carregamento:

- In Progress (Em curso)—O software de controlo está a carregar os ficheiros para o BaseSpace Sequence Hub.
- Complete (Concluído) O software de controlo carregou com sucesso todos os ficheiros para o BaseSpace Sequence Hub.

Estado do Local Run Manager

O Local Run Manager mostra o estado da análise no software de controlo:

- Not Started (Não iniciado) A análise está na fila para ser iniciada ou o Local Run Manager está a aguardar que a Análise em tempo real termine.
- In Progress (Em curso)—O Local Run Manager está a analisar ficheiros. Verifique o software do Local Run Manager para obter informações mais detalhadas sobre o estado.
- Stopped (Parado) A análise parou, mas está incompleta.
- **Complete** (Concluído) O Local Run Manager concluiu a análise com sucesso.

Para mais informações sobre o estado da análise, verifique o software Local Run Manager.

Reagente iSeq 100 i1

Para realizar um ensaio no Sistema iSeq 100, é necessário um kit de Reagentes iSeq 100 i1 v2 de utilização única. O kit está disponível num tamanho (300 ciclos) e três conjuntos:

- ▶ Individual—Fornece consumíveis para um ensaio.
- **Embalagem de quatro unidades**—Fornece consumíveis para quatro ensaios.
- **Embalagem de oito unidades**—Fornece consumíveis para oito ensaios.

Conteúdo e armazenamento

O Reagente iSeq 100 i 1v2 fornece o cartucho e a célula de fluxo para sequenciação.

Pacote	Quantidade	Componente	Temperatura de armazenamento
Individual	1	Cartucho	-25 °C a -15 °C
	1	Célula de fluxo	2 °C a 8 °C*
Embalagem de quatro unidades	4	Cartucho	-25 °C a -15 °C
_	4	Célula de fluxo	2 °C a 8 °C*

Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico.

Pacote	Quantidade	Componente	Temperatura de armazenamento
Embalagem de oito unidades	8	Cartucho	-25 °C a -15 °C
	8	Célula de fluxo	2 °C a 8 °C*

*Enviado à temperatura ambiente.

Quando receber o Reagente iSeq 100 i1 v2, armazene imediatamente os componentes nas condições apropriadas, para garantir um desempenho correto:

- Armazene de acordo com as temperaturas indicadas.
- Não abra a embalagem com folha de alumínio branca até ser instruído para tal. O cartucho é descongelado dentro do saco.
- Coloque o cartucho de forma que a etiqueta da embalagem fique virada para cima.
- Armazene o cartucho durante pelo menos um dia antes de descongelar num banho com água.

Célula de fluxo

A célula de fluxo iSeq 100 i1 é padronizada e de cavidade única integrada num sensor ótico semicondutor de óxido metálico complementar (CMOS). Um cartucho de plástico sustenta a célula de fluxo à base de vidro. Os pontos de aderência elevados no plástico asseguram um manuseamento seguro.



- A Pontos de aderência
- B Sensor CMOS (superior)
- C Área de imagem
- D Junta (uma ou duas)
- E Sensor CMOS (inferior)
- F Interface elétrica

Milhões de nanopoços cobrem a superfície da célula de fluxo. Os clusters são gerados nos nano-poços, a partir dos quais a reação de sequenciação é realizada. A disposição ordenada dos nanopoços aumenta os dados e as leituras de saída. Durante a sequenciação, o sensor CMOS capta as imagens para análise.

Para fins de controlo e para garantir a compatibilidade, a célula de fluxo utiliza uma interface elétrica: memória apenas de leitura programável e passível de ser eliminada eletricamente (EEPROM).

Cartucho

O cartucho iSeq 100 i1 é enchido previamente com reagentes de indexação, clustering, sequenciação e extremidades emparelhadas. Um reservatório selado com folha de alumínio está reservado para bancos, e uma ranhura na parte da frente está reservada para a nova célula de fluxo. A luz do iluminador alcança a célula de fluxo através de uma janela de acesso na parte superior do cartucho.

Documento n.º 100000036024 v07 POR



- A Janela de acesso
- B Ranhura da célula de fluxo
- C Reservatório do banco

O cartucho contém todos os consumíveis para um ensaio: reagentes, banco e célula de fluxo. O banco e a célula de fluxo são carregados no cartucho descongelado, que depois é carregado no instrumento. A identificação por radiofrequência (RFID) garante a compatibilidade e o controlo.

Após o início do ensaio, os reagentes e os bancos são transferidos automaticamente do cartucho para a célula de fluxo. O reservatório da parte de baixo recolhe os reagentes utilizados. O cartucho também contém bombas, válvulas e todos os outros fluídicos para o sistema. Uma vez que o cartucho é eliminado após um ensaio, não é necessário lavar os instrumentos.

Compatibilidade do software

Antes de descongelar os reagentes e preparar um ensaio, certifique-se de que o sistema está atualizado para a versão de software compatível com o seu kit. Para as informações sobre a atualização, consulte *Atualizações de software* na página 33.

Kit	Software compatível
Reagente iSeq 100 i1 v2	iSeq Control Software v2.0, ou posterior
Reagente iSeq 100 i1 (v1)	iSeq Control Software v1.2, ou posterior

Número de ciclos suportados

A etiqueta de 300 ciclos no cartucho indica quantos ciclos são analisados e não quantos ciclos são realizados. Assim, o cartucho fornece reagentes suficientes para até 322 ciclos de sequenciação.

Os 322 ciclos incluem 151 ciclos para a Read 1 (Leitura 1) e 151 ciclos para a Read 2 (Leitura 2), mais até 10 ciclos para o Index 2 (Índice 2). Para mais informações sobre a quantidade de ciclos a sequenciar, consulte a secção *Número de ciclos recomendado* na página 21.

A célula de fluxo é compatível com qualquer número de ciclos e qualquer tipo de leitura.

Descrições de símbolos

A seguinte tabela descreve os símbolos no consumível ou na embalagem do consumível.

Símbolo	Descrição
<u>†</u>	Indica que lado deve estar virado para cima no armazenamento.
	A data de validade do consumível. Para melhores resultados, utilize o consumível antes desta data.
	Indica o fabricante (Illumina).
\sim	A data em que o consumível foi fabricado.
RUO	A utilização prevista é Apenas para investigação.
REF	Indica o número da peça para que o consumível possa ser identificado.*
LOT	Indica o código do lote para identificar o lote de fabrico do consumível.*
\triangle	Indica que é preciso ter atenção.
	Indica um perigo para a saúde.
	Intervalo da temperatura de armazenamento em graus Celsius. Guarde o consumível dentro do intervalo indicado.

* REF identifica o componente individual, enquanto LOT identifica o lote ao qual o componente pertence.

Capítulo 2 Introdução

Primeira configuração	.11
Minimizar o software de controlo	.11
Definições do ensaio	.12
Personalização do instrumento	.14
Configuração de rede	16
Consumíveis e equipamento fornecidos pelo utilizador	.18

Primeira configuração

Quando ligar o sistema pela primeira vez, o software de controlo é iniciado com uma série de ecrãs para orientar o utilizador na primeira configuração. A primeira configuração inclui a realização de uma verificação do sistema para confirmar o desempenho do instrumento e configurar as definições do sistema.

Caso pretenda modificar as definições do sistema após a primeira configuração, selecione o comando System Settings (Definições do sistema) no software de controlo. O comando abre os separadores Settings (Definições), Network Access (Acesso de rede) e Customization (Personalização), onde poderá aceder a todas as definições do software de controlo e às definições de rede do Windows.

Contas do sistema operativo

O sistema operativo Windows tem duas contas: administrador (sbsadmin) e utilizador padrão (sbsuser). O sistema operativo requer a alteração das palavras-passe em ambas as contas no primeiro início de sessão.

A conta de administrador destina-se a ser usada pelo pessoal de TI, para atualizações do sistema e para instalar o software de controlo, módulos de análise do Local Run Manager e outro software. Execute todas as outras funções, incluindo a sequenciação, com a conta de utilizador.

Ensaios de validação

Opcionalmente, execute um ensaio de validação antes de realizar a sequenciação dos bancos experimentais pela primeira vez. Um ensaio de validação realiza a sequenciação de 100% PhiX, que funciona como banco de controlo, para confirmar o funcionamento do sistema. Para obter instruções, consulte *Sequenciação* na página 20.

Minimizar o software de controlo

Minimize o software de controlo para aceder a outras aplicações. Por exemplo, para aceder à pasta de saída do Explorador de ficheiros ou procurar uma folha de amostras.

- 1 Deslize o ecrã tátil para cima para abrir a barra de tarefas do Windows.
- Selecione o ícone Sistema iSeq 100 ou outra aplicação.
 O software de controlo é minimizado.
- 3 **[Opcional]** Ligue um teclado e um rato ao instrumento para facilitar a navegação e escrever fora do software de controlo.
- 4 Para maximizar o software de controlo, deslize para cima e selecione **Sistema iSeq 100**.

Definições do ensaio

Configure as opções para a configuração do ensaio, monitorização do ensaio e análise de dados no separador Settings (Definições) em System Settings (Definições do sistema). Este separador apresenta as definições rápidas recomendadas, que pode aplicar selecionando a opção de configuração rápida. Em alternativa, selecione a opção de configuração manual para personalizar as definições.

A seleção de definições rápidas aplica as seguintes definições e envia ficheiros InterOp, ficheiros de registo, dados de desempenho do instrumento e dados do ensaio para o BaseSpace Sequence Hub:

- Suporte proativo da Illumina Facilita a resolução de problemas e a deteção de potenciais falhas, permitindo uma manutenção proativa e a maximização do tempo de produtividade do instrumento. A ativação do Suporte proativo da Illumina resulta no envio dos dados de desempenho do instrumento (não os dados de sequenciação) para o BaseSpace Sequence Hub. Para mais informações, consulte a *Nota do Suporte técnico proativo da Illumina (documento n.º 100000052503).*
- Local Run Manager—Utilize o software Local Run Manager para criar ensaios e analisar dados de ensaio e usufruir de um fluxo de trabalho simples e eficiente. Não são necessárias folhas de amostra e aplicações de análise em separado.
- Monitorização remota de ensaios—Utilize o BaseSpace Sequence Hub para monitorização remota do ensaio.
- Análise de ensaios, Colaboração e Armazenamento—Utilize o BaseSpace Sequence Hub para armazenar e analisar os dados do ensaio e colaborar com colegas.



NOTA

O Local Run Manager inicia automaticamente uma análise quando o ensaio estiver concluído. Contudo, também pode analisar os dados no BaseSpace Sequence Hub.

Aplicar definições rápidas

A configuração rápida substitui as definições de execução atuais pelas definições de execução recomendadas e pelas definições localizadas para o BaseSpace Sequence Hub. Estas definições requerem uma ligação à Internet e uma conta no BaseSpace Sequence Hub. Para obter instruções de configuração de conta, consulte a *Ajuda online do BaseSpace Sequence Hub (documento n.º 100000009008)*.

- 1 No menu do software de controlo, selecione System Settings (Definições do sistema).
- 2 No separador Settings (Definições), selecione Use Express Settings (Utilizar definições rápidas).
- Na lista Set Region (Definir região), selecione a localização geográfica onde o sistema se encontra ou a localização mais próxima do mesmo.
 Esta definição garante que os dados são armazenados na localização adequada do BaseSpace Seguence Hub.
- 4 Se tiver uma subscrição empresarial, no campo Enter Private Domain (Introduzir domínio privado), introduza o nome do domínio (URL) utilizado para início de sessão único no BaseSpace Sequence Hub. Por exemplo: https://yourlab.basespace.illumina.com.
- 5 Selecione **Next** (Seguinte).
- 6 Reveja as definições. Para modificar uma definição:
 - a Selecione Edit (Editar) para abrir a definição.
 - b Modifique a definição conforme necessário e, em seguida, selecione Next (Seguinte).

c Selecione Next (Seguinte) para avançar para os ecrãs seguintes.

No ecrã Settings Review (Revisão de definições), um visto verde indica as definições ativadas.

- 7 Selecione Save (Guardar).
- 8 Para fechar as System Settings (Definições do sistema), selecione Exit (Sair).

Configurar manualmente as definições

A configuração manual orienta o utilizador em cada ecrã do separador Settings (Definições) na configuração das definições do ensaio, que têm os seguintes requisitos:

- Para ativar o Suporte proativo da Illumina e o BaseSpace Sequence Hub, é necessária uma ligação à Internet. O BaseSpace Sequence Hub também requer uma conta. Para obter instruções de configuração de conta, consulte a Ajuda online do BaseSpace Sequence Hub (documento n.º 100000009008).
- Para utilizar o BaseSpace Sequence Hub para análise de dados quando o sistema está configurado no modo Manual, é necessária uma folha de amostras. Para obter detalhes, consulte a secção Requisitos da folha de amostras na página 14.
- 1 No menu do software de controlo, selecione System Settings (Definições do sistema).
- 2 Selecione Set Up Manually (Configurar manualmente).
- 3 Selecione se pretende ativar o Suporte proativo da Illumina:
 - Para ativar, selecione a caixa de verificação Turn on Illumina Proactive Support (Ativar o Suporte proativo da Illumina).
 - Para desativar, desmarque a caixa de verificação Turn on Illumina Proactive Support (Ativar o Suporte proativo da Illumina).

O serviço envia dados de desempenho do instrumento, tais como a temperatura e o tempo do ensaio, para a Illumina. Estes dados ajudam a Illumina a detetar potenciais falhas e facilitam a resolução de problemas. Os dados do ensaio não são enviados. Para mais informações, consulte a *Nota do Suporte técnico proativo da Illumina (documento n.º 100000052503)*.

- 4 Selecione **Next** (Seguinte).
- 5 Selecione se pretende ligar ensaios ao BaseSpace Sequence Hub:
 - Para ligar ensaios, selecione uma das seguintes caixas de verificação:
 - Turn on run monitoring from anywhere only (Ativar a monitorização de ensaios remotamente apenas)—Use o BaseSpace Sequence Hub para monitorização remota.
 - Turn on run analysis, collaboration, and storage also (Ativar a análise de ensaios, a colaboração e também o armazenamento)—Use o BaseSpace Sequence Hub para análise e monitorização remota.
 - Para desligar ensaios, desmarque as caixas de verificação Turn on run monitoring from anywhere only (Ativar a monitorização de ensaios remotamente apenas) e Turn on run analysis, collaboration, and storage also (Ativar a análise de ensaios, a colaboração e também o armazenamento).

Quando ligado, o software de controlo envia ficheiros de registo e InterOp para o BaseSpace Sequence Hub. A opção de análise do ensaio, colaboração e armazenamento também envia os dados do ensaio.

6 Na lista Set Region (Definir região), selecione a localização geográfica onde o sistema se encontra ou a localização mais próxima do mesmo.

Esta definição garante que os dados são armazenados na localização adequada do BaseSpace Sequence Hub.

Documento n.º 100000036024 v07 POR

- 7 Se tiver uma subscrição empresarial, no campo Enter Private Domain (Introduzir domínio privado), introduza o nome do domínio (URL) utilizado para início de sessão único no BaseSpace Sequence Hub. Por exemplo: https://yourlab.basespace.illumina.com.
- 8 Selecione Next (Seguinte).
- 9 Selecione se pretende integrar o software de controlo no Local Run Manager:
 - Para criar ensaios e analisar dados no Local Run Manager, selecione Use Local Run Manager (Utilizar o Local Run Manager).
 - Para criar ensaios no software de controlo e analisar dados noutra aplicação, selecione Use Manual Mode (Utilizar o modo Manual).

O Local Run Manager permite um fluxo de trabalho mais simplificado, mas não é uma funcionalidade do software de controlo. É o software integrado para registar amostras para sequenciação, criar ensaios e analisar dados. Antes da sequenciação, consulte o *Guia do Software Local Run Manager (documento n.º 100000002702)*.

- 10 Selecione Next (Seguinte).
- 11 Reveja as definições. Para modificar uma definição:
 - a Selecione **Edit** (Editar) para abrir a definição.
 - b Modifique a definição conforme necessário e, em seguida, selecione Next (Seguinte).
 - c Selecione Next (Seguinte) para avançar para os ecrãs seguintes.

No ecrã Settings Review (Revisão de definições), um visto verde indica as definições ativadas.

- 12 Selecione Save (Guardar).
- 13 Para fechar as System Settings (Definições do sistema), selecione Exit (Sair).

Requisitos da folha de amostras

Quando o sistema é configurado no modo Manual e o utilizador está a analisar dados no BaseSpace Sequence Hub, cada ensaio requer uma folha de amostras. Crie uma folha de amostras editando o *Modelo da folha de amostras do Sistema iSeq 100 do modo Manual* e, em seguida, importe-o para o software de controlo durante a configuração. Após a importação, o software muda automaticamente o nome da folha de amostras para SampleSheet.csv.

Transfira o modelo da folha de amostras das páginas de suporte do Sistema de Sequenciação iSeq 100: Modelo de folha de amostras do Sistema iSeq 100 para o modo Manual.



ATENÇÃO

Introduza as sequências do adaptador Index 2 (Índice 2) (i5) na orientação correta para o Sistema de Sequenciação iSeq 100. Para ver a orientação do índice, consulte *Sequências do adaptador Illumina* (documento n.º100000002694).

Uma folha de amostras também é necessária quando o sistema é configurado no modo Local Run Manager. Contudo, o Local Run Manager cria uma folha de amostras e guarda na localização apropriada. Em todos os outros casos, uma folha de amostras é opcional.

Personalização do instrumento

Atribua um nome ao seu instrumento e configure as definições de áudio, imagens miniatura e atualizações de software no separador Customization (Personalização) em System Settings (Definições do sistema).

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Nome do instrumento

- 1 No menu do software de controlo, selecione System Settings (Definições do sistema).
- 2 Selecione o separador Customization (Personalização).
- 3 No campo Instrument Nickname (Alcunha do instrumento), introduza um nome preferencial para o instrumento.

O nome é apresentado na parte superior de cada ecrã.

- 4 Selecione Save (Guardar).
- 5 Para fechar as System Settings (Definições do sistema), selecione Exit (Sair).

Ativar ou desativar o áudio

- 1 No menu do software de controlo, selecione System Settings (Definições do sistema).
- 2 Selecione o separador Customization (Personalização).
- 3 Selecione se pretende silenciar o sistema:
 - Para desativar o áudio, selecione Off (Desligado).
 - Para ativar o áudio, selecione **On** (Ligado).
- 4 Selecione **Save** (Guardar).
- 5 Para fechar as System Settings (Definições do sistema), selecione Exit (Sair).

Guardar miniaturas

- 1 No menu do software de controlo, selecione System Settings (Definições do sistema).
- 2 Selecione o separador Customization (Personalização).
- 3 Selecione se pretende guardar imagens em miniatura:
 - Para guardar todas as miniaturas, selecione a caixa de verificação Save all thumbnail images (Guardar todas as miniaturas).
 - Para não guardar quaisquer miniaturas, desmarque a caixa de verificação Save all thumbnail images (Guardar todas as miniaturas).

Guardar imagens em miniatura ajuda na resolução de problemas, mas aumenta um pouco o tamanho do ensaio. Por predefinição, todas as imagens em miniatura são guardadas.

- 4 Selecione Save (Guardar).
- 5 Para fechar as System Settings (Definições do sistema), selecione Exit (Sair).

Configurar atualizações do software

O sistema pode procurar e transferir automaticamente atualizações de software para instalar ou o utilizador poderá procurar manualmente. Para mais informações, consulte *Atualizações de software* na página 33.

- 1 No menu do software de controlo, selecione System Settings (Definições do sistema).
- 2 Selecione o separador Customization (Personalização).
- 3 Selecione se pretende que o sistema verifique automaticamente atualizações de software:
 - Para verificar automaticamente, selecione a caixa de verificação Autocheck for software updates (Verificar automaticamente atualizações de software).

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Apenas para efeitos de investigação.

Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico.

Para verificar manualmente, desmarque a caixa de verificação Autocheck for software updates (Verificar automaticamente atualizações de software).

A verificação automática requer uma ligação à Internet.

- 4 Selecione **Save** (Guardar).
- 5 Para fechar as System Settings (Definições do sistema), selecione Exit (Sair).

Configuração de rede

Para utilizar o sistema e transferir dados, só é necessária uma ligação Wi-Fi ou Ethernet com as predefinições de rede. Não é necessário atualizar estas definições, a menos que a sua organização tenha requisitos de rede personalizados. Se tiver, consulte o seu representante de TI para obter ajuda para alterar as predefinições de rede.

O Guia de Preparação do Centro Clínico do Sistema de Sequenciação iSeq 100 (documento *n.º* 1000000035337) fornece diretrizes para as definições de rede e controlar a segurança do computador.

Especificar a localização da pasta de saída

O Universal Copy Service copia os ficheiros de saída da pasta do ensaio para o BaseSpace Sequence Hub (se aplicável) e para a pasta de saída, onde pode aceder aos mesmos.

É necessária uma pasta de saída, a menos que o sistema esteja configurado para efetuar monitorização de ensaios, análise, colaboração e armazenamento através do BaseSpace Sequence Hub. Se não for especificada a localização de uma pasta de saída, o Universal Copy Service copia os ficheiros para D:\SequencingRuns.

- 1 No menu do software de controlo, selecione System Settings (Definições do sistema).
- 2 Selecione o separador Network Access (Acesso de rede).
- 3 No campo Output Folder (Pasta de saída), introduza uma localização predefinida ou selecione **Browse** (Procurar) para aceder a uma localização.
 - Internal drive (Unidade interna) Introduza uma localização existente na unidade D. A unidade C não tem espaço suficiente.
 - External drive (Unidade externa)—Introduza a localização de uma unidade USB ligada ao instrumento.
 - ▶ Network location (Localização de rede) Introduza uma localização de rede.

Pode alterar a localização predefinida com base no ensaio.

- 4 Proceda da seguinte forma.
 - Se especificar a localização numa unidade interna ou externa, selecione Save (Guardar) e, em seguida, Exit (Sair) para guardar a localização e fechar as System Settings (Definições do sistema).
 - Se especificou uma localização de rede, avance para os passos 5–8 para ligar o Universal Copy Service a uma conta que tenha acesso à localização especificada.
- 5 Em Universal Copy Service, selecione um tipo de conta:
 - Local System Account (Conta de sistema local)—A pasta de saída está num diretório acessível com uma conta local, com acesso à maior parte das localizações locais.
 - Network Account (Conta de rede)—A pasta de saída está localizada num diretório que requer credenciais de início de sessão.

Esta definição aplica-se à localização predefinida da pasta de saída e qualquer localização especificada durante a configuração do ensaio.

- 6 Se selecionou Network Account (Conta de rede), introduza o nome de utilizador e a palavra-passe da conta.
- 7 Selecione **Save** (Guardar).
- 8 Para fechar as System Settings (Definições do sistema), selecione Exit (Sair).

Ligar à Internet

Configure uma ligação à Internet por Wi-Fi ou Ethernet nas definições de rede e Internet do Windows, que pode abrir a partir do software de controlo. A ligação de Ethernet predefinida transfere os dados de forma mais fiável.

- 1 No menu do software de controlo, selecione System Settings (Definições do sistema).
- 2 Selecione o separador Network Access (Acesso de rede).
- 3 Selecione **Network Configuration** (Configuração de rede), que minimiza o software de controlo e abre as definições de rede e Internet do Windows.
- 4 Configure uma ligação Wi-Fi ou Ethernet.
 - Se configurar Wi-Fi, altere a opção do adaptador para Wi-Fi.
 - Para obter instruções detalhadas de configuração, consulte a ajuda do Windows 10 no sítio Web da Microsoft.
- 5 Quando a configuração estiver concluída, feche as definições do Windows e maximize o software de controlo.
- 6 No separador Network Access (Acesso de rede), selecione Save (Guardar).
- 7 Para fechar as System Settings (Definições do sistema), selecione Exit (Sair).

Ligar a um servidor proxy

- 1 Minimizar o software de controlo.
- 2 No menu Iniciar do Windows, abra a caixa de diálogo Executar.
- 3 Escreva **cmd** e, em seguida, selecione **OK**.
- 4 Escreva o seguinte comando:
 - C:\windows\System32\bitsadmin.exe /Util /SetIEProxy LocalSystem Manual_ proxy http://<proxyserver>:<proxy port> NULL
- 5 Substitua http://<proxyserver>:<proxy port> pelo seu endereço de servidor proxy e porta proxy, e NULL por quaisquer omissões.
- 6 Prima Enter para executar o comando.
- 7 Faça um ciclo de inicialização ao instrumento. Para obter instruções, consulte *Ciclo de inicialização do instrumento* na página 46.

Consumíveis e equipamento fornecidos pelo utilizador

Consumíveis para sequenciação

Consumível	Fabricante	Finalidade
Luvas descartáveis, sem pó	Fornecedor geral do laboratório	Uso geral.
Reagente iSeq 100 i1 v2	 Illumina, catálogo n.º: 20031371 (300 ciclos, embalagem única) 20031374 (300 ciclos, embalagem de quatro unidades) 20040760 (300 ciclos, embalagem de oito unidades) 	Fornece os reagentes e a célula de fluxo para um ensaio.
Microtubos, 1,5 ml	Fisher Scientific, catálogo n.º 14-222-158 ou equivalentes de baixa ligação	Diluir bancos na concentração de carregamento.
Papel absorvente	Fornecedor geral do laboratório	Secar o cartucho após um banho com água.
Pontas de pipeta, 20 µl	Fornecedor geral do laboratório	Diluir e carregar bancos.
Pontas de pipeta, 100 µl	Fornecedor geral do laboratório	Diluir e carregar bancos.
Tampão de ressuspensão (RSB)	Illumina, fornecido com os kits de preparação de bancos	Diluir bancos na concentração de carregamento.
[Opcional] 10 mM Tris-HCl, pH 8,5	Fornecedor geral do laboratório	Substituto de RSB para diluir bancos na concentração de carregamento.
[Opcional] PhiX Control v3	lllumina, catálogo n.º FC-110-3001	Executar um ensaio apenas PhiX ou contaminar um controlo PhiX

Consumíveis para manutenção e resolução de problemas

Consumível	Fabricante	Finalidade
Toalhetes com lixívia a 10%	WWR, catálogo n.º 16200-218 ou equivalente	Descontaminar o instrumento e limpar as superfícies de trabalho.
Luvas descartáveis, sem pó	Fornecedor geral do laboratório	Uso geral.
Tapete sobresselente para tabuleiro de recolha iSeq 1001	lllumina, catálogo n.º 20023927	Forrar o tabuleiro de recolha para absorver a fuga de fluidos.
Filtro de ar sobresselente iSeq 1001	lllumina, catálogo n.º 20023928	Substituir o filtro de ar de seis em seis meses.
Kit de testes do Sistema iSeq 100²	lllumina, catálogo n.º 20024141	Realizar uma verificação do sistema.
Toalhetes de álcool isopropílico a 70%	WWR, catálogo n.º 95041-714 ou equivalente	Limpar o instrumento e a célula de fluxo de teste reutilizável.
Pano de laboratório, libertação reduzida de pelo	VWR, catálogo n.º 21905-026 ou equivalente	Secar o tabuleiro de recolha e a célula de fluxo de teste reutilizável.
Papel absorvente	Fornecedor geral do laboratório	Secar os fluidos à volta do instrumento.
[Opcional] Solução de lixívia a 10%	VWR, catálogo n.º 16003-740 (32 oz), 16003-742 (16 oz) ou equivalente	Limpar as superfícies de trabalho após a descontaminação.

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Consumível	Fabricante	Finalidade
[Opcional] toalhetes de etanol a 70%	Fisher Scientific, catálogo n.º 19-037-876 ou equivalente	Substituto dos toalhetes de álcool isopropílico para limpar o instrumento e a célula de fluxo de teste reutilizável.

¹ O instrumento é enviado com um instalado e outro sobresselente. Quando não estiver ao abrigo da garantia, as substituições são fornecidas pelo utilizador. Mantenha na embalagem até à utilização.

² Substitui os componentes de teste reutilizáveis fornecidos com o instrumento quando expirarem após 5 anos ou quando excederem as 130 utilizações.

Equipamento

Item	Origem	Finalidade	
Congelador, -25 °C a -15 °C	Fornecedor geral do Armazenar o cartucho. Iaboratório		
Balde para gelo	Fornecedor geral do Reservar bancos. Iaboratório		
Pipeta, 10 µl	Fornecedor geral do Iaboratório	Diluir bancos na concentração de carregamento.	
Pipeta, 20 µl	Fornecedor geral do Iaboratório	Diluir bancos na concentração de carregamento.	
Pipeta, 100 µl	Fornecedor geral do Iaboratório	Diluir bancos na concentração de carregamento.	
Frigorífico, 2 °C a 8 °C	Fornecedor geral do Iaboratório	Armazenar a célula de fluxo.	
[Opcional] Teclado	Fornecedor geral do laboratório	Complementar o teclado no ecrã.	
[Opcional] Rato	Fornecedor geral do laboratório	Complementar a interface do ecrã tátil.	
[Opcional] Banho com água	Fornecedor geral do laboratório	Descongelar o cartucho.	

Capítulo 3 Sequenciação

Introdução	20
Descongelar o cartucho embalado	21
Preparar a célula de fluxo e os bancos	22
Carregar consumíveis no cartucho	24
Configurar um ensaio de sequenciação (Local Run Manager)	26
Configurar um ensaio de sequenciação (modo Manual)	29

Introdução

O Sistema de Sequenciação iSeq 100 é composto por geração de clusters, sequenciação e análise. Cada passo ocorre automaticamente durante um ensaio de sequenciação. Dependendo da configuração do sistema, é executada uma análise adicional fora do instrumento após a conclusão do ensaio.

- Geração de clusters—O banco é automaticamente desnaturado em cadeias únicas e adicionalmente diluído no instrumento. Durante a geração de clusters, as moléculas individuais de ADN estão ligadas à superfície da célula de fluxo e amplificadas para formar clusters.
- Sequenciação As imagens dos clusters são obtidas com a química de um corante, que utiliza uma etiqueta fluorescente e dois ciclos de imagem para codificar os dados para os quatro nucleótidos. O primeiro ciclo de imagem deteta adenina (A) e timina (T). Um ciclo de química divide o corante de A e adiciona simultaneamente um corante semelhante à citosina (C). O segundo ciclo de imagem deteta C e T. Após o segundo ciclo de imagem, o software de Análise em tempo real executa a identificação de bases, a filtragem e a pontuação de qualidade. Este processo é repetido para cada ciclo de sequenciação. Para mais informações sobre a química com um corante, consulte *Identificação de bases* na página 42.
- Análise À medida que o ensaio avança, o software de controlo transfere automaticamente os ficheiros de identificação de bases (*.bcl) para a pasta especificada da análise de dados. O método da análise de dados depende da aplicação e da configuração do sistema.

Concentração e volume de carregamento

O volume de carregamento é de 20 µl. A concentração de carregamento varia consoante o tipo de banco e cartucho.

Ισ ΝΟΤΑ

Se tiver encontrado uma concentração de carregamento ideal adequada para si no Reagente iSeq 100 i1 v1, recomendamos iniciar com essa mesma concentração de carregamento quando efetuar a sequenciação no Reagente iSeq 100 i1 v2.

Tipo de banco	Concentração de carregamento (pM)	
100% PhiX (para ensaios apenas PhiX)	100	
AmpliSeq Library PLUS para 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	

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Para outros tipos de banco, a Illumina recomenda 50 pM como concentração inicial de carregamento. Otimize esta concentração nos ensaios subsequentes para identificar uma concentração de carregamento que produz constantemente dados que cumprem as especificações.

Concentrações de carregamento que sejam demasiado elevadas ou demasiado baixas resultam num clustering e em métricas de ensaio não ideais. Para mais informações, consulte o *Guia de descrição geral da otimização de clusters (documento n.º 100000071511)*.

Número de ciclos recomendado

Para cada leitura, introduza no mínimo 26 ciclos e no máximo 151 ciclos para otimizar a qualidade dos dados. O número exato de ciclos depende da sua experiência.

Os números de ciclos mínimos e máximos incluem um ciclo extra. Adicione sempre um ciclo ao comprimento de leitura pretendido para corrigir os efeitos de fase e pré-fase. O comprimento de leitura é o número de ciclos de *sequenciação* em Read 1 (Leitura 1) e Read 2 (Leitura 2), o que exclui ciclos extra e ciclos de índice.

Exemplo de configurações do ensaio:

- Para um comprimento de leitura de 36 (leitura única), introduza 37 no campo Read 1 (Leitura 1).
- Para um comprimento de leitura de 150 por leitura (extremidades emparelhadas), introduza 151 no campo Read 1 (Leitura 1) e 151 no campo Read 2 (Leitura 2).

Requisitos de sequenciação

- Quando manusear reagentes e outros químicos, use óculos de segurança, uma bata de laboratório e luvas sem pó. Mude de luvas quando solicitado para evitar a contaminação cruzada.
- Certifique-se de que tem os consumíveis e o equipamento necessários antes de iniciar um protocolo. Consulte Consumíveis e equipamento fornecidos pelo utilizador na página 18.
- Siga os protocolos pela ordem apresentada, utilizando as temperaturas, as durações e os volumes especificados.
- A menos que esteja especificado um ponto de paragem, avance imediatamente para o passo seguinte.
- Se planear descongelar o cartucho num banho com água, armazene-o a uma temperatura entre -25 °C e -15 °C durante, pelo menos, 1 dia antes do descongelamento. O banho com água é o método de descongelamento mais rápido dos três métodos de descongelamento.

Descongelar o cartucho embalado

- 1 Calce um novo par de luvas sem pó.
- 2 Retire o cartucho do armazenamento de -25 °C a -15 °C.
- 3 Se o cartucho estiver encaixotado, remova-o da caixa, mas não abra o saco de alumínio branco.



Documento n.º 100000036024 v07 POR

4 Descongele o cartucho embalado utilizando um dos seguintes métodos. Use imediatamente depois de descongelar, sem voltar a congelar ou armazenar de outro modo.

Método	Tempo de descongelamento	Instrução
Banho com água de 20 °C a 25 °C	6 horas, não ultrapassando as 18 horas	 Utilize 6 L (1,5 gal) de água por cartucho. Prepare um banho de água a uma temperatura controlada de 25 °C <i>ou</i> misture água quente e fria para atingir uma temperatura entre os 20 °C e os 25 °C. Vire a etiqueta do saco para cima, mergulhe o cartucho completamente e aplique peso de ~2 kg (4,5 lb) para evitar que flutue. Não empilhe os cartuchos no banho de água a menos que a temperatura seja controlada.
Frigorífico 2 °C a 8 °C	36 horas, não ultrapassando 1 semana	Posicione o cartucho de forma que a etiqueta fique voltada para cima e que o ar circule em ambos os lados, incluindo a parte inferior.
Ar à temperatura ambiente	9 horas, não ultrapassando as 18 horas	Posicione o cartucho de forma que a etiqueta fique voltada para cima e que o ar circule em ambos os lados, incluindo a parte inferior.



ATENÇÃO

Descongelar o cartucho num banho com água diretamente após o envio, quando este esteve armazenado em gelo seco, poderá afetar adversamente o desempenho. Armazene -25 °C e -15 °C durante pelo menos 1 dia antes de descongelar.

5 Se molhar devido ao banho com água, seque com papel absorvente.

Preparar a célula de fluxo e os bancos

Antes de carregar a célula de fluxo e os bancos para o cartucho, coloque a célula de fluxo à temperatura ambiente e dilua os bancos com um pico opcional de PhiX. Os bancos são desnaturados automaticamente no instrumento.

As instruções de diluição aplicam-se aos bancos suportados pela Illumina com cadeia dupla. Execute sempre uma análise de controlo de qualidade, otimize a concentração de carregamento do seu banco e utilize um método de normalização que gere bancos de cadeia dupla. A normalização à base de esferas que gera bancos de cadeia única não é compatível com a desnaturação no instrumento.

Diluir banco de 1 nM

- 1 Prepare a célula de fluxo da seguinte forma.
 - a Retire uma nova célula de fluxo do armazenamento de 2 °C a 8 °C.
 - b Reserve a embalagem por abrir à temperatura ambiente durante 10-15 minutos.
- 2 Remova o tampão de ressuspensão (RSB) do armazenamento entre -25 °C e -15 °C. Em alternativa, utilize 10 mM Tris-HCl, pH 8,5 em vez de RSB.
- 3 **[Opcional]** Remova o stock de PhiX 10 nM do armazenamento de -25 °C a -15 °C . O PhiX é necessário apenas para um ensaio de pico opcional ou apenas PhiX.
- 4 Descongele o RSB e o PhiX opcional à temperatura ambiente durante 10 minutos.

5 Num microtubo de *baixa ligação*, dilua o banco de 1 nM no RSB ao volume aplicável:

Tipo de banco	Volume de banco de 1 nM (µl)*	
100% PhiX (para ensaios apenas PhiX)	12	
AmpliSeq Library PLUS para Illumina	7	
Nextera DNA Flex	12	
Nextera Flex for Enrichment	10	
Nextera XT DNA	20	
TruSeq DNA Nano	20	
TruSeq DNA PCR-Free	12	

* Os volumes incluem o excedente para a pipetagem exata.

Uma sequenciação bem-sucedida depende da diluição de bancos em microtubos de baixa ligação.

- 6 Agite brevemente em vórtice e, em seguida, centrifugue a 280 × g durante 1 minuto.
- 7 [Opcional] Armazene um banco de 1 nM à temperatura de -25 °C a -15 °C até 1 mês.

Dilua um banco de 1 nM para a concentração de carregamento

1 Num microtubo de baixa ligação, combine os seguintes volumes para preparar um banco de 100 µl diluído para a concentração de carregamento aplicável:

Tipo de banco*	Concentração de carregamento (pM)	Volume do banco de 1 nM (μl)	Volume do RSB (µl)
100% PhiX (para ensaios apenas PhiX)	100	10	90
AmpliSeq Library PLUS para 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

Estas tabelas fornecem exemplos de concentrações de carregamento. O Sistema iSeq 100 é compatível com todos os kits de preparação de bancos da Illumina, exceto SureCell WTA3', mas a concentração de carregamento ideal pode variar.

- 2 Agite brevemente em vórtice e, em seguida, centrifugue a 280 × g durante 1 minuto.
- 3 Reserve o banco diluído em gelo para sequenciação. Efetue a sequenciação dos bancos no mesmo dia em que são diluídos.
- 4 Se **não** estiver a adicionar PhiX ou se estiver a executar um ensaio de apenas PhiX, ignore a secção seguinte e avance para a secção *Carregar consumíveis no cartucho* na página 24.

Adicionar um PhiX Control (Opcional)

O PhiX é um banco pequeno e pronto a utilizar da Illumina com uma representação equilibrada de nucleótidos. Se juntar 2% de pico de PhiX ao banco fornece métricas adicionais. Para bancos com baixa diversidade, utilize um pico de 10% para aumentar a diversidade de base.



Um pico baixo de 1% é eficaz para fornecer métrica adicional, mas dificulta a pipetagem.

- 1 Num microtubo de baixa ligação, combine os seguintes volumes para preparar 50 µl 1 nM PhiX:
 - ▶ 10 nM PhiX (5 μl)
 - ▶ RSB (45 µl)
- 2 Agite brevemente em vórtice e, em seguida, centrifugue a 280 × g durante 1 minuto.
- 3 [Opcional] Armazene 1 nM PhiX entre -25 °C e -15 °C até 1 mês.
- 4 Num microtubo de baixa ligação, combine 1 nM PhiX e RSB para preparar 100 µl PhiX diluído à mesma concentração de carregamento que o banco.

Por exemplo:

Concentração de carregamento de PhiX (pM)	Volume do 1 nM PhiX (µl)	Volume do RSB (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 Combinar PhiX e banco:
 - Para um pico de 2%, junte 2 µl de PhiX diluído num banco de 100 µl diluído.
 - Para um pico de 10%, junte 10 µl de PhiX diluído num banco de 100 µl diluído.
 - A percentagem atual de PhiX varia consoante a qualidade e a quantidade do banco.
- 6 Agite brevemente em vórtice e, em seguida, centrifugue a 280 × g durante 1 minuto.
- 7 Reserve o banco com pico de PhiX em gelo.

Carregar consumíveis no cartucho

- 1 **[Opcional]** Para ver um vídeo com instruções da preparação do cartucho e carregamento, selecione **Sequence** (Sequência).
- 2 Abra o saco do cartucho pelos entalhes.
- 3 Evitando a janela de acesso na parte superior do cartucho, remova o cartucho do saco. Elimine o saco.
- Inverta o cartucho cinco vezes para misturar os reagentes.
 Os componentes internos podem fazer barulho durante a inversão, o que é normal.
- 5 Toque no cartucho (com a etiqueta voltada para cima) na bancada ou noutra superfície dura cinco vezes para garantir a aspiração do reagente.

Carregar banco

1 Com uma nova ponta de pipeta, perfure o reservatório do banco e empurre a folha de alumínio para as extremidades para alargar o orifício.



- 2 Elimine a ponta da pipeta para evitar a contaminação.
- 3 Adicione 20 µl de banco diluído na parte *inferior* do reservatório. Evite tocar na folha de alumínio.



Carregar a célula de fluxo

- 1 Abra a embalagem da célula de fluxo em alumínio branco pelos entalhes. Utilize no prazo de 24 horas após a abertura.
- 2 Retire a célula de fluxo da embalagem.
 - Toque apenas no plástico quando manusear a célula de fluxo.
 - Evite tocar na interface elétrica, no sensor CMOS, no vidro e nas juntas de cada lado do vidro.



- 3 Segure a célula de fluxo pelos pontos de aderência com a etiqueta voltada para cima.
- Introduza a célula de fluxo na ranhura na parte da frente do cartucho.
 Um clique audível indica que a célula de fluxo está no devido lugar. Quando carregada corretamente, o gancho fica saliente no cartucho e o vidro é visível a partir da janela de acesso.

Documento n.º 100000036024 v07 POR



- A Carregar a célula de fluxo
- B Célula de fluxo carregada
- 5 Elimine a embalagem da seguinte forma.
 - a Remova a caixa articulada da embalagem de alumínio.
 - b Remova o dessecante da caixa articulada.
 - c Recicle a caixa articulada e elimine a embalagem de alumínio e o dessecante.
- 6 Continue se o sistema estiver integrado ou não no Local Run Manager:
 - Se estiver a utilizar o Local Run Manager, siga a secção Configurar um ensaio de sequenciação (Local Run Manager) na página 26.
 - Se não estiver a utilizar o Local Run Manager, siga a secção Configurar um ensaio de sequenciação (modo Manual) na página 29.

Configurar um ensaio de sequenciação (Local Run Manager)

Configurar um ensaio com o Local Run Manager inclui criar e guardar o ensaio no Local Run Manager e, em seguida, voltar ao software de controlo para carregar os consumíveis e selecionar o ensaio. Os dados são guardados na pasta de saída especificada para a análise, que o Local Run Manager executa automaticamente quando o ensaio estiver concluído.

1 Abra o Local Run Manager localmente no monitor do instrumento ou remotamente a partir de outro computador:

Acesso	Open Local Run Manager (Abrir Local Run Manager)
Local	No menu do software de controlo, selecione Local Run Manager e, em seguida, Open Local Run Manager (Abrir Local Run Manager).
Remoto	No menu do software de controlo, selecione About (Acerca de) para obter o endereço IP do sistema. Num computador ligado à mesma rede que o instrumento, abra o Local Run Manager no Chromium. Utilize o endereço IP do sistema para ligar.

- 2 Se o Chromium estiver em branco no monitor do instrumento, realize um ciclo de inicialização ao instrumento e reinicie a configuração do ensaio. Consulte a secção *Ciclo de inicialização do instrumento* na página 46 para obter instruções.
- 3 No Local Run Manager, crie e guarde o ensaio.
 - Consulte o Guia do Software Local Run Manager (documento n.º 100000002702) para obter instruções.
 - Configure um ensaio de apenas PhiX para ser não indexado.
 - O Local Run Manager envia automaticamente os ensaios guardados para o software de controlo.

- 4 No software de controlo, selecione Sequence (Sequenciação).
 O software abre a porta em ângulo, ejeta o tabuleiro e inicia a série de ecrãs de configuração do ensaio.
- 5 **[Opcional]** Selecione **Help** (Ajuda) para ver a instrução do ecrã. São apresentadas janelas de ajuda em cada ecrã para fornecer ajuda adicional.

Carregar o cartucho no instrumento

- 1 Certifique-se de que o cartucho está descongelado e contém a célula de fluxo e o banco diluído.
- 2 Coloque o cartucho no tabuleiro de forma que a janela de acesso fique virada para cima e que a célula de fluxo fique dentro do instrumento. Não empurre o cartucho ou o tabuleiro para o instrumento.



3 Selecione Close Door (Fechar porta) para retrair o cartucho e fechar a porta. É apresentado um painel no lado esquerdo do ecrã para mostrar informações dos consumíveis verificados.

Iniciar sessão no BaseSpace Sequence Hub

O ecrã do BaseSpace Sequence Hub é apresentado quando o sistema é configurado para Run Monitoring (Monitorização de ensaios) ou Run Monitoring and Storage (Armazenamento e monitorização de ensaios).

- Para desligar o ensaio atual do BaseSpace Sequence Hub, selecione Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In (Ignorar o início de sessão do BaseSpace Sequence Hub).
 Os dados de desempenho do instrumento continuam a ser enviados para a Illumina.
- 2 Para alterar a conetividade do ensaio atual, selecione uma opção de configuração:
 - Run Monitoring Only (Apenas monitorização do ensaio) Enviar apenas ficheiros InterOp para o BaseSpace Sequence Hub para permitir a monitorização remota.
 - Run Monitoring and Storage (Armazenamento e monitorização de ensaios)—Enviar dados do ensaio para o BaseSpace Sequence Hub para permitir a análise e a monitorização remota.
- 3 Introduza as suas credenciais do BaseSpace Sequence Hub e, em seguida, selecione **Sign In** (Iniciar sessão).
- Se a lista Available Workgroups (Grupos de trabalho disponíveis) for apresentada, selecione um grupo de trabalho para o qual pretende enviar os dados do ensaio.
 A lista é apresentada quando o utilizador pertence a vários grupos de trabalho.
- 5 Selecione **Run Setup** (Configuração do ensaio).
Selecionar um ensaio

- 1 Se for apresentado o ecrã Log In (Iniciar sessão) do Local Run Manager:
 - a Introduza o seu nome de utilizador e a palavra-passe.
 - b Selecione Log In (Iniciar sessão).

O ecrã é apresentado quando o Local Run Manager está configurado para pedir o início de sessão. Por predefinição, não é necessário iniciar sessão.

- 2 Selecione um ensaio na lista Run Name (Nome do ensaio), que apresenta os ensaios guardados no Local Run Manager.
 - Para ver uma lista atualizada, selecione **Refresh** (Atualizar).
 - Para preencher uma lista vazia, selecione Open Local Run Manager (Abrir Local Run Manager) e crie um ensaio.

Se selecionar Open Local Run Manager (Abrir Local Run Manager) irá minimizar o software de controlo e abrir o Local Run Manager no Chromium.

- 3 Se tiver saído do software de controlo para criar um ensaio, volte e selecione o ensaio. Selecione **Refresh** (Atualizar) para atualizar a lista.
- 4 [Opcional] Selecione Edit (Editar) e, em seguida, modifique os parâmetros do ensaio:
 - a Para alterar o Read Type (Tipo de leitura), selecione **Single Read** (Leitura única) ou **Paired End** (Extremidades emparelhadas).
 - b Para alterar o Read Cycle (Ciclo de leitura), introduza 26–151 ciclos para Read 1 (Leitura 1) e 151 ciclos para Read 2 (Leitura 2). Adicione um ciclo ao número de ciclos pretendido.
 - c Para alterar a pasta de saída do ensaio atual, introduza o caminho da localização ou selecione **Browse** (Procurar) para aceder à mesma.
 - d Selecione **Save** (Guardar), para atualizar o ensaio no software de controlo e no Local Run Manager.
- 5 Selecione **Start Run** (Iniciar ensaio) para iniciar a verificação pré-ensaio.

Rever verificações pré-ensaio

As verificações pré-ensaio incluem uma verificação do instrumento e uma verificação do fluxo. A verificação do fluxo perfura os selos do cartucho e passa o reagente pela célula de fluxo, de modo que os consumíveis não podem ser reutilizados após o seu início.

1 Aguarde cerca de 15 minutos para as verificações pré-ensaio terminarem.

O ensaio começa automaticamente após uma conclusão bem-sucedida. A menos que o sistema seja silenciado, um aviso sonoro indica que o ensaio foi iniciado.



ATENÇÃO

Abrir a porta durante a verificação pré-ensaio ou o ensaio pode provocar a falha do ensaio.

2 Se ocorrer um erro durante a verificação do instrumento, selecione **Retry** (Tentar novamente) para reiniciar a verificação.

A verificação do instrumento precedes a verificação do fluxo. Quando uma verificação está em curso, a barra é animada.

3 Se ocorrer um erro, consulte a secção *Resolução de mensagens de erro* na página 45 para resolver o problema.

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Apenas para efeitos de investigação.

Monitorizar o progresso do ensaio

1 Monitorize o progresso do ensaio e a métrica à medida que são apresentados no ecrã Sequencing (Sequenciação) após o ciclo 26.

Indicador	Descrição
%Q30 Read 1 (Leitura 1)	A percentagem de identificação de bases da Read 1 (Leitura 1) com uma pontuação Q ≥ 30.
%Q30 Read 2 (Leitura 2)	A percentagem de identificação de bases da Read 2 (Leitura 2) com uma pontuação Q ≥ 30.
%Clusters PF	A percentagem de clusters que passou nos filtros de qualidade.
%Ocupação	A percentagem dos poços da célula de fluxo que contêm clusters.
Produção total projetada	O número esperado de identificação de bases no ensaio.

2 Para monitorizar cópias de ficheiros e outros processos de ensaio, selecione o menu do software de controlo e, em seguida, selecione **Process Management** (Gestão de processos).

Descarregar consumíveis

- Quando a sequenciação estiver concluída, selecione Eject Cartridge (Ejetar cartucho).
 O software ejeta o cartucho usado do instrumento.
- 2 Remova o cartucho do tabuleiro.
- 3 Remova a célula de fluxo do cartucho.
- 4 Elimine a célula de fluxo, que contém componentes eletrónicos, de acordo com as normas aplicáveis na sua região.
- 5 Elimine o cartucho, que contém reagentes usados, de acordo com as normas aplicáveis na sua região. Uma lavagem pós-ensaio não é necessária porque os fluídicos são eliminados com o cartucho.



Este conjunto de reagentes contém químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer lesões pessoais por inalação, ingestão, contacto da pele e contacto ocular. Use equipamento de proteção, incluindo proteção ocular, luvas e bata de laboratório adequados para o risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduos químicos e elimine-os de acordo com a legislação e os regulamentos locais, regionais e nacionais aplicáveis. Para obter informações adicionais relativas ao ambiente, saúde e segurança, consulte a FDS em support.illumina.com/sds.html.

6 Selecione Close Door (Fechar porta) para recarregar o tabuleiro e voltar ao ecrã inicial.
 O software recarrega automaticamente o tabuleiro e os sensores confirmam a remoção do cartucho.

Configurar um ensaio de sequenciação (modo Manual)

Configurar um ensaio no modo Manual significa que tem de especificar os parâmetros do ensaio no software de controlo e executar uma análise fora do instrumento, utilizando uma aplicação à sua escolha. O software guarda os dados na pasta de saída da análise. Para gerar ficheiros FASTQ é necessário um passo adicional.

- 1 Se o sistema estiver configurado para efetuar a análise de ensaios, colaboração e armazenamento através do BaseSpace Sequence Hub, crie uma folha de amostras para o ensaio:
 - a Transfira o Modelo da folha de amostras do Sistema iSeq 100 para o modo Manual a partir da página

de Transferências de software iSeq 100.

- b Modifique o modelo, conforme necessário. Certifique-se de que:
 - As sequências do adaptador Index 2 (Índice 2) (i5) estão na orientação correta. Para ver as orientações, consulte Sequências do adaptador Illumina (documento n.º 100000002694).
 - Os valores da folha de amostras corresponde aos valores do software de controlo. Por exemplo, introduza 151 no campo Read 1 (Leitura 1) da folha de amostras e do ecrã Run Setup (Configuração do ensaio).
- c Guarde o modelo no formato de ficheiro CSV.
- No software de controlo, selecione Sequence (Sequenciação).
 O software abre a porta em ângulo, ejeta o tabuleiro e inicia a série de ecrãs de configuração do ensaio.
- 3 **[Opcional]** Selecione **Help** (Ajuda) para ver a instrução do ecrã. São apresentadas janelas de ajuda em cada ecrã para fornecer ajuda adicional.

Carregar o cartucho no instrumento

- 1 Certifique-se de que o cartucho está descongelado e contém a célula de fluxo e o banco diluído.
- 2 Coloque o cartucho no tabuleiro de forma que a janela de acesso fique virada para cima e que a célula de fluxo fique dentro do instrumento. Não empurre o cartucho ou o tabuleiro para o instrumento.



3 Selecione Close Door (Fechar porta) para retrair o cartucho e fechar a porta. É apresentado um painel no lado esquerdo do ecrã para mostrar informações dos consumíveis verificados.

Iniciar sessão no BaseSpace Sequence Hub

O ecrã do BaseSpace Sequence Hub é apresentado quando o sistema é configurado para Run Monitoring (Monitorização de ensaios) ou Run Monitoring and Storage (Armazenamento e monitorização de ensaios).

- Para desligar o ensaio atual do BaseSpace Sequence Hub, selecione Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In (Ignorar o início de sessão do BaseSpace Sequence Hub).
 Os dados de desempenho do instrumento continuam a ser enviados para a Illumina.
- 2 Para alterar a conetividade do ensaio atual, selecione uma opção de configuração:
 - Run Monitoring Only (Apenas monitorização do ensaio) Enviar apenas ficheiros InterOp para o BaseSpace Sequence Hub para permitir a monitorização remota.
 - Run Monitoring and Storage (Armazenamento e monitorização de ensaios)—Enviar dados do ensaio para o BaseSpace Sequence Hub para permitir a análise e a monitorização remota.
- 3 Introduza as suas credenciais do BaseSpace Sequence Hub e, em seguida, selecione **Sign In** (Iniciar sessão).

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Apenas para efeitos de investigação.

Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico.

Se a lista Available Workgroups (Grupos de trabalho disponíveis) for apresentada, selecione um grupo de trabalho para o qual pretende enviar os dados do ensaio.

A lista é apresentada quando o utilizador pertence a vários grupos de trabalho.

5 Selecione Run Setup (Configuração do ensaio).

Introduzir os parâmetros do ensaio

1 No campo Run Name (Nome do ensaio), introduza um nome exclusivo à sua escolha para identificar o ensaio atual.

O nome do ensaio pode conter carateres alfanuméricos, hífenes e sublinhados.

- 2 Para consultar o tipo de leitura, selecione uma das seguintes opções:
 - Single Read (Leitura individual) Executar uma leitura de sequenciação, que é uma opção mais rápida e mais simples.
 - Paired End (Extremidades emparelhadas)—Executar duas leituras de sequenciação, que geram dados de alta qualidade e fornecem um alinhamento mais preciso.
- 3 Em Read Cycle (Ciclo de leitura), introduza o número de ciclos a executar em cada leitura.
 - Em Read 1 (Leitura 1) e Read 2 (Leitura 2), adicione um ciclo ao número de ciclos pretendido.
 - Para um ensaio de apenas PhiX, introduza **0** em ambos os campos do índice.

Leitura	Número de ciclos
Read 1 (Leitura 1)	26–151
Index 1 (Índice 1)	Até 10
Index 2 (Índice 2)	Até 10
Read 2 (Leitura 2)	26–151

Read 2 (Leitura 2) tem normalmente o mesmo valor que a Read 1 (Leitura 1), incluindo o ciclo extra. O Index 1 (Índice 1) faz a sequenciação do adaptador de índices i7 e o Index 2 (Índice 2) faz a sequenciação do adaptador de índices i5.

- 4 Para especificar uma pasta de saída para o ensaio atual ou carregar uma folha de amostras, selecione Advanced (Avançadas):
 - No campo Output Folder (Pasta de saída), introduza o caminho para a localização da pasta de saída ou selecione Browse (Procurar) e aceda à mesma.
 - No campo Sample Sheet (Folha de amostras), introduza o caminho para a localização da folha de amostras ou selecione Browse (Procurar) e aceda à mesma.
- 5 Selecione **Start Run** (Iniciar ensaio) para iniciar a verificação pré-ensaio.

Rever verificações pré-ensaio

As verificações pré-ensaio incluem uma verificação do instrumento e uma verificação do fluxo. A verificação do fluxo perfura os selos do cartucho e passa o reagente pela célula de fluxo, de modo que os consumíveis não podem ser reutilizados após o seu início.

Aguarde cerca de 15 minutos para as verificações pré-ensaio terminarem.
 O ensaio começa automaticamente após uma conclusão bem-sucedida. A menos que o sistema seja silenciado, um aviso sonoro indica que o ensaio foi iniciado.



ATENÇÃO

Abrir a porta durante a verificação pré-ensaio ou o ensaio pode provocar a falha do ensaio.

Documento n.º 100000036024 v07 POR

2 Se ocorrer um erro durante a verificação do instrumento, selecione **Retry** (Tentar novamente) para reiniciar a verificação.

A verificação do instrumento precedes a verificação do fluxo. Quando uma verificação está em curso, a barra é animada.

3 Se ocorrer um erro, consulte a secção *Resolução de mensagens de erro* na página 45 para resolver o problema.

Monitorizar o progresso do ensaio

1 Monitorize o progresso do ensaio e a métrica à medida que são apresentados no ecrã Sequencing (Sequenciação) após o ciclo 26.

Indicador	Descrição
%Q30 Read 1 (Leitura 1)	A percentagem de identificação de bases da Read 1 (Leitura 1) com uma pontuação Q ≥ 30.
%Q30 Read 2 (Leitura 2)	A percentagem de identificação de bases da Read 2 (Leitura 2) com uma pontuação Q ≥ 30.
%Clusters PF	A percentagem de clusters que passou nos filtros de qualidade.
%Ocupação	A percentagem dos poços da célula de fluxo que contêm clusters.
Produção total projetada	O número esperado de identificação de bases no ensaio.

2 Para monitorizar cópias de ficheiros e outros processos de ensaio, selecione o menu do software de controlo e, em seguida, selecione **Process Management** (Gestão de processos).

Descarregar consumíveis

- Quando a sequenciação estiver concluída, selecione Eject Cartridge (Ejetar cartucho).
 O software ejeta o cartucho usado do instrumento.
- 2 Remova o cartucho do tabuleiro.
- 3 Remova a célula de fluxo do cartucho.
- 4 Elimine a célula de fluxo, que contém componentes eletrónicos, de acordo com as normas aplicáveis na sua região.
- 5 Elimine o cartucho, que contém reagentes usados, de acordo com as normas aplicáveis na sua região. Uma lavagem pós-ensaio não é necessária porque os fluídicos são eliminados com o cartucho.



AVISO

Este conjunto de reagentes contém químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer lesões pessoais por inalação, ingestão, contacto da pele e contacto ocular. Use equipamento de proteção, incluindo proteção ocular, luvas e bata de laboratório adequados para o risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduos químicos e elimine-os de acordo com a legislação e os regulamentos locais, regionais e nacionais aplicáveis. Para obter informações adicionais relativas ao ambiente, saúde e segurança, consulte a FDS em support.illumina.com/sds.html.

6 Selecione Close Door (Fechar porta) para recarregar o tabuleiro e voltar ao ecrã inicial.
 O software recarrega automaticamente o tabuleiro e os sensores confirmam a remoção do cartucho.

Capítulo 4 Manutenção

Limpar o espaço no disco rígido	
Atualizações de software	33
Substituir o filtro de ar	
Deslocar o instrumento	

Limpar o espaço no disco rígido

Um ensaio de sequenciação requer cerca de 2 GB de espaço no disco rígido. Quando o espaço for reduzido, execute os seguintes passos para eliminar ensaios concluídos e libertar espaço.

- No menu de controlo do software, selecione Process Management (Gestão de processos).
 O ecrã Process Management (Gestão de processos) é apresentado com uma lista de ensaios guardados no disco rígido.
- Para o ensaio que pretende eliminar, selecione Delete (Eliminar).
 Se eliminar um ensaio, elimina a pasta de ensaios local. A pasta de saída, que é uma cópia da pasta do ensaio, é retida.
- 3 Na caixa de diálogo, selecione Yes (Sim) para confirmar a eliminação do ensaio.
- 4 Repita os passos 2 e 3 para cada ensaio que pretende eliminar.
- 5 Quando terminar, feche a janela Process Management (Gestão de processos) para voltar ao ecrã Sequence (Sequenciação).

Atualizações de software

Se atualizar o software irá garantir que o seu sistema tem as funcionalidades e as correções de erros mais recentes. As atualizações de software são fornecidas num conjunto designado por conjunto do sistema, que inclui o seguinte software:

- ▶ iSeq Control Software
- Receitas do Sistema iSeq 100
- Serviço de cópia universal
- Análise em tempo real
- Local Run Manager (apenas framework)

부 ΝΟΤΑ

Embora o Local Run Manager esteja incluído no conjunto do sistema, os módulos de análise não estão. Instale-os em separado conforme necessário utilizando a conta sbsadmin. Aceda ao software do módulo de análise a partir das páginas de suporte do Local Run Manager.

O sistema está configurado para transferir atualizações de software automática ou manualmente:

- Automatic updates (Atualizações automáticas) As atualizações são transferidas automaticamente do BaseSpace Sequence Hub para instalar. Esta opção requer uma ligação à Internet, mas não é necessária uma conta no BaseSpace Sequence Hub.
- Manual updates (Atualizações manuais)—As atualizações são transferidas manualmente a partir da Web, guardadas localmente ou num dispositivo portátil e instaladas a partir da localização guardada. Esta opção não requer uma ligação à Internet.

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Apenas para efeitos de investigação.

Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico.

Instalar uma atualização de software automática

- 1 Mude para a conta sbsadmin do sistema operativo.
- Selecione o menu do software de controlo e selecione Software Update (Atualização de software) para abrir a caixa de diálogo Software Update (Atualização de software).
 Os sistemas configurados para atualizações automáticas apresentam um alerta quando estiver disponível uma atualização de software.
- 3 Para verificar se existem atualizações, selecione uma das seguintes opções:
 - **Check for Update** (Procurar atualizações) Verificar se está disponível uma atualização de software.
 - Autocheck for Updates (Procurar automaticamente atualizações) Verificar se está disponível uma atualização de software e configurar o sistema para procurar atualizações de software automaticamente.

Estas opções estão visíveis nos sistemas ligados à Internet, mas que não tenham sido configurados para atualizações automáticas.

- 4 Selecione Update (Atualizar) para transferir a nova versão do software. Quando a transferência estiver concluída, o software de controlo é fechado e é apresentado o assistente de instalação.
- 5 No assistente de instalação, selecione Install (Instalar).



NOTA

Cancelar uma atualização antes da conclusão da instalação para a atualização no ponto atual. Quaisquer alterações efetuadas no ponto de cancelamento serão revertidas para a versão anterior ou não instalada.

- 6 Quando a instalação estiver concluída, selecione Close (Fechar).
- 7 Se o Registry Editor (Editor de registo) for apresentado, selecione Yes (Sim).
 O software de controlo é reiniciado automaticamente. Qualquer atualização de firmware ocorre automaticamente após reiniciar.

Instalar uma atualização de software manual

- 1 Mude para a conta sbsadmin do sistema operativo.
- 2 Quando uma atualização de software estiver disponível, transfira o programa de instalação (*.exe) da página de suporte do Sistema de Sequenciação iSeq 100. Guarde o programa de instalação numa unidade local ou portátil.
- 3 Se guardar o programa de instalação numa unidade portátil, ligue a unidade a uma porta USB na parte de trás do instrumento. Mova o instrumento conforme necessário para aceder à parte de trás.
- 4 No software de controlo, selecione **Software Update** (Atualização de software) no menu do software de controlo.
- 5 Na caixa de diálogo Software Update (Atualização de software), expanda **Install from local or portable** drive (Instalar a partir de unidade local ou portátil).
- 6 Selecione **Browse** (Procurar) para aceder ao programa de instalação.
- 7 Selecione Update (Atualizar) para iniciar a instalação.O software de controlo é fechado e é apresentado o assistente de instalação.
- 8 No assistente de instalação, selecione Install (Instalar).

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Apenas para efeitos de investigação.



NOTA

Cancelar uma atualização antes da conclusão da instalação para a atualização no ponto atual. Quaisquer alterações efetuadas no ponto de cancelamento serão revertidas para a versão anterior ou não instalada.

- 9 Quando a instalação estiver concluída, selecione Close (Fechar).
- Se o Registry Editor (Editor de registo) for apresentado, selecione Yes (Sim).
 O software de controlo é reiniciado automaticamente. Qualquer atualização de firmware ocorre automaticamente após reiniciar.

Substituir o filtro de ar

O filtro de ar é uma peça em espuma de uma única utilização que cobre os dois ventiladores na parte de trás do instrumento. Assegura o arrefecimento adequado e impede a entrada de detritos no sistema. O instrumento é enviado com um filtro de ar instalado e um sobresselente. Peças sobresselentes adicionais estão incluídas na garantia ou podem ser adquiridas na Illumina.

O software solicita a substituição do filtro de ar a cada seis meses após a primeira configuração. Utilize as instruções seguintes para substituir um filtro de ar expirado.

- 1 Posicione o instrumento de forma a ter fácil acesso à parte de trás.
- 2 Na parte de trás do instrumento, prima o lado direito do painel superior para desengatar, conforme mostrado na ilustração seguinte.



3 Remova o painel do instrumento.



4 Remova o filtro de ar em espuma do centro do painel e elimine.



- 5 Coloque um novo filtro de ar no painel e pressione para prender.
- 6 Introduza os dois ganchos do painel nos orifícios do instrumento e prima para o colocar no devido lugar.



- 7 Coloque o instrumento no local original.
- 8 Selecione Filter Changed (Filtro substituído) para continuar.

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Apenas para efeitos de investigação. Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico.

Deslocar o instrumento

Utilize as seguintes instruções para deslocar o instrumento. Certifique-se de que a nova localização cumpre os requisitos descritos no *Guia de Preparação do Centro Clínico do Sistema de Sequenciação iSeq 100 (documento n.º 1000000035337)*.

Se estiver a devolver um instrumento, ignore esta secção e consulte Substituição avançada na página 53.

- 1 No menu, selecione **Shut Down System** (Encerrar sistema).
- 2 Se o sistema não encerrar, prima o botão de alimentação no lado esquerdo do instrumento até as luzes apagarem.
- Quando o botão de alimentação pulsar, prima o lado (O) para desligar do interruptor no painel traseiro.
 O botão de alimentação pode continuar a pulsar depois de desligar a alimentação.

Figura 7 Localização do interruptor



- 4 Desligue o cabo de alimentação da tomada de parede e, em seguida, da tomada de alimentação de CA no painel traseiro.
- 5 Se aplicável, desligue o cabo Ethernet da tomada de parede e, em seguida, da porta Ethernet no painel traseiro.
- 6 Baixe o monitor.
- 7 Coloque o instrumento na localização pretendida.O instrumento pesa 15,9 kg (35 lb) e tem de ser levantado por duas pessoas.
- 8 Levante o monitor.
- 9 Se o instrumento estiver ligado a uma rede, ligue o cabo Ethernet a uma porta Ethernet.
- 10 Ligue o cabo de alimentação à entrada de alimentação de CA no painel traseiro e, em seguida, a uma tomada de parede.
- 11 Prima o lado (I) do interruptor.

12 Quando o botão de alimentação pulsar, prima-o.

Figura 8 Localização do botão de alimentação



13 Quando o sistema operativo for carregado, inicie sessão no Windows.
 O software de controlo é iniciado e inicializa o sistema. O ecrã inicial é apresentado quando a inicialização estiver concluída.

Apêndice A Saída de sequenciação

Descrição geral da análise em tempo real	.39
Fluxo de trabalho de análise em tempo real	41

Descrição geral da análise em tempo real

O software de Análise em tempo real é executado no computador de controlo do instrumento. Durante a sequenciação, extrai as intensidades das imagens para realizar a identificação de bases e, em seguida, atribui uma pontuação de qualidade à identificação de bases.

O Sistema de Sequenciação iSeq 100 utiliza a implementação de RTA2 da Análise em tempo real. O RTA2 e o software de controlo comunicam através de uma interface HTTP da Web e ficheiros de memória partilhados. Se o RTA2 terminar, o processamento não é retomado e os dados do ensaio não são guardados.



NOTA

O desempenho de desmultiplexação não é calculado, pelo que o separador Index (Índice) do Sequencing Analysis Viewer não é preenchido.

Ficheiros de entrada

O RTA2 requer os seguintes ficheiros de entrada para processar:

- Imagens em bloco contidas na memória do sistema local.
- Ficheiro de configuração Análise em tempo real em formato XML.
- RunInfo.xml, gerado automaticamente pelo software de controlo no início do ensaio.

O RTA2 recebe comandos do software de controlo que incluem informações sobre a localização do ficheiro RunInfo.xml e se foi especificada uma pasta de saída. A partir do ficheiro RunInfo.xml, o RTA2 lê o nome do ensaio, o número de ciclos, se existe uma leitura indexada e o número de blocos na célula de fluxo.

Ficheiros de saída

As imagens são passadas da memória para o RTA2 como blocos, que são pequenas áreas de imagem na célula de fluxo definidas por uma vista de câmara. A célula de fluxo do iSeq 100 i1 tem 16 blocos.

A partir destas imagens, o RTA2 produz um conjunto de ficheiros de identificação de bases com base na pontuação de qualidade e ficheiros de filtro, como resultado principal. Outros ficheiros suportam a geração do resultado principal.

Tipo de ficheiro	Descrição de ficheiro, Localização e Nome
Ficheiros de identificação de bases	Cada bloco analisado está incluído num ficheiro de identificação de bases, agregado num ficheiro por ciclo. O ficheiro agregado contém a identificação de bases e a pontuação de qualidade associada a cada cluster. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [Cycle].bcl.bgzf, em que [Cycle] (Ciclo) representa o número do ciclo em quatro dígitos. Os ficheiros de identificação de bases são comprimidos com a compressão de blocos gzip.
Ficheiros de índice de identificação de bases	Um ficheiro de índice de identificação de bases preserva as informações do bloco original. Para cada bloco, o ficheiro de índice contém o número do bloco e o número de clusters. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [Cycle].bcl.bgzf.bci

Tipo de ficheiro	Descrição de ficheiro, Localização e Nome
Ficheiro de localizações de cluster	Um ficheiro de localização de clusters (s.locs) contém as coordenadas X e Y de cada cluster na célula de fluxo. Data\Intensities s.locs
Ficheiros de filtro	Os ficheiros de filtro especificam se os clusters passam no filtro. É gerado um ficheiro de filtro para cada bloco. Os ficheiros de filtro são gerados ao ciclo 26 com 25 ciclos de dados. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane].filter
Ficheiros InterOp	Métricas em tempo real da qualidade do ensaio atualizadas ao longo do ensaio. Estes ficheiros binários contêm o bloco, o ciclo e a métrica do nível de leitura e são necessários para ver a métrica no Sequencing Analysis Viewer. Pasta InterOp
Ficheiro de configuração RTA	Lista os parâmetros para o ensaio. Criado no início do ensaio, o ficheiro combina valores do ficheiro de configuração de entrada e os valores definidos pelo RTA2. [Pasta raiz], RTAConfiguration.xml
Ficheiro de informações do ensaio*	Apresenta o nome do ensaio, o número de ciclos por leitura, se a leitura é uma Leitura de índice e o número de faixas e blocos. Criado no início do ensaio. [Pasta raiz], RunInfo.xml
Ficheiros de miniatura	As imagens miniaturas dos blocos das células de fluxo. Images\L001\C[X.1]—Ficheiros armazenados numa pasta para cada faixa e uma subpasta para cada ciclo. s_[lane]_[tile].jpg—A imagem miniatura inclui o número do bloco.

*Criado pelo software de controlo. O RTA2 cria todos os outros ficheiros apresentados na tabela.

O Local Run Manager e o BaseSpace Sequence Hub convertem automaticamente os ficheiros de identificação de bases para ficheiros FASTQ. Ao realizar uma sequenciação no modo Manual, utilize a versão mais recente do Software de conversão bcl2fastq2 para converter ficheiros FASTQ. Transfira o software a partir das páginas de suporte do Software de conversão bcl2fastq no sítio Web da Illumina.

Caminho e nome da pasta de saída

Para cada ensaio, o software de controlo gera automaticamente uma pasta de saída e uma pasta de ensaio. Aceda aos dados do ensaio a partir da pasta de saída, que é uma cópia da pasta do ensaio. A pasta do ensaio destina-se a ser utilizada pelo sistema.

O caminho para a pasta de saída é definido pelo utilizador, mas assume a predefinição D:\. O software de controlo atribui um nome à pasta de saída com o formato seguinte.

Formato	Exemplo
<aaaammdd>_<id do="" instrumento="">_<número do="" ensaio="">_<id célula="" da="" de="" fluxo=""></id></número></id></aaaammdd>	20180331_FFSP247_4_BNS417-05-25-12

O número do ensaio aumenta uma unidade sempre que o sistema executa um ensaio. Os números de série identificam o instrumento e a célula de fluxo.

Estrutura da pasta de saída

Recipe-Ficheiro de receita específica do ensaio.

Logs—Ficheiros de registo que descrevem análises do instrumento, passos operacionais e outros eventos.

- Config—Definições de configuração do ensaio.
- RunParameters.xml
- RunInfo.xml
- CopyComplete.txt
- RunCompletionStatus.txt
- RTAComplete.txt
- RTAConfiguration.xml
- 🚞 Data

🚞 Intensities

🚞 BaseCalls

E L001

🗉 s.locs

🚞 InterOp

- 🚞 Images
- SampleSheet.csv-A folha de amostras ou o manifesto de amostras.
- **RTALogs**—Os ficheiros de registo que descrevem eventos de RTA2.

Erro ao manusear

O RTA2 cria ficheiros de registo e grava-os na pasta RTALogs. Os erros são gravados num ficheiro de erro em formato TSV.

Os seguintes ficheiros de registo e erro são transferidos para o destino de saída final no fim do processamento:

- ▶ O *GlobalLog*.tsv resume os eventos de ensaio importantes.
- ▶ O *Error*.tsv apresenta os erros que ocorreram durante um ensaio.
- ▶ O *WarningLog*.tsv apresenta os avisos que ocorreram durante um ensaio.

Fluxo de trabalho de análise em tempo real

Extração de intensidade	Determina um valor de intensidade para cada cluster.
+	
Correção de fases	Corrige os efeitos de fase e pré-fase.
+	
Identificação de bases	Determina uma identificação de bases para cada cluster.
+	
Pontuação de qualidade	Atribui uma pontuação de qualidade a cada identificação de bases.

Extração de intensidade

A extração de intensidade calcula um valor de intensidade para cada nanopoço numa determinada imagem.

Correção de fases

Durante a reação de sequenciação, cada cadeia de ADN num cluster expande-se uma base por ciclo. A fase e a pré-fase ocorrem quando uma cadeia fica fora de fase com o ciclo atual de incorporação.

- A fase ocorre quando uma base fica para trás.
- A pré-fase ocorre quando uma base avança.

Figura 9 Fase e pré-fase



- A Leitura com uma base em fase
- B Leitura com uma base em pré-fase

O RTA2 corrige os efeitos de fase e pré-fase, o que maximiza a qualidade dos dados em cada ciclo do ensaio.

Identificação de bases

A identificação de bases determina a base (A, C, G ou T) de cada cluster de um determinado bloco num ciclo específico. O Sistema iSeq 100 utiliza a sequenciação com um corante, o que requer um corante e duas imagens para codificar os dados para as quatro bases.

As intensidades extraídas de uma imagem e comparadas com uma segunda imagem resultam em quatro populações distintas, cada uma correspondente a um nucleótido. A identificação de bases determina a população a que pertence cada cluster.



Figura 10 Visualização de intensidades de cluster

Tabela 1 A identificação de bases na sequenciação com um corante

Base	Corante na primeira imagem	Corante na segunda imagem	Conclusão das imagens comparadas
Т	Ativo	Ativo	Os clusters que mostram intensidade em ambas as imagens são bases T.
А	Ativo	Inativo	Os clusters que mostram intensidade apenas na primeira imagem são bases A.
С	Inativo	Ativo	Os clusters que mostram intensidade apenas na segunda imagem são bases C.
G	Inativo	Inativo	Os clusters que não mostram intensidade em nenhuma imagem são bases G.

Filtro de passagem de clusters

Durante o ensaio, o RTA2 filtra os dados não processados para remover as leituras que não cumprem o limiar de qualidade dos dados. Os clusters sobrepostos e de baixa qualidade são removidos.

Para a sequenciação com um corante, o RTA2 utiliza um sistema baseado em população para determinar a pureza (medição da intensidade de pureza) de uma identificação de bases. O filtro de passagem de clusters (PF) é ativado quando não mais de uma identificação de bases nos primeiros 25 ciclos tiver uma pureza inferior a um limiar fixo.

O alinhamento PhiX é executado no ciclo 26 num subconjunto de blocos dos clusters que passaram no filtro. Os clusters que não passem no filtro não são identificados por bases nem alinhados.

Leituras de índice

O processo das leituras de índice de identificação de bases é diferente do das leituras de sequenciação de identificação de bases. Os primeiros dois ciclos de uma Leitura de Índice não podem começar por duas bases G, caso contrário, a intensidade não é gerada. Para garantir o desempenho de desmultiplexação, a intensidade tem de estar presente num dos primeiros dois ciclos.

Certifique-se de que *pelo menos* uma sequência do adaptador de índice num pool de bancos não começa por duas bases G. Selecione sequências do adaptador de índice equilibradas para que o sinal esteja presente em pelo menos uma imagem (de preferência em ambas as imagens) de cada ciclo. A disposição da placa e as sequências fornecidas no IDT para índices Illumina TruSeq UD foram concebidas para ter o equilíbrio adequado.

Para mais informações sobre indexação e pooling, consulte o *Guia de Pooling de Adaptadores de Índice* (documento n.º 1000000041074).

Pontuação de qualidade

Uma pontuação de qualidade, ou pontuação Q, é uma previsão da probabilidade de uma identificação de bases incorreta. Uma pontuação Q mais elevada implica que a identificação de bases tem uma qualidade mais elevada e há mais probabilidade de estar correta.

A pontuação Q é uma forma compacta de comunicar probabilidades de pequenos erros. Q(X) representa as pontuações de qualidade, em que X é a pontuação. A seguinte tabela mostra a relação entre a pontuação de qualidade e a probabilidade de erro.

Pontuação Q Q(X)	Probabilidade de erro
Q40	0,0001 (1 em 10 000)
Q30	0,001 (1 em 1000)
Q20	0,01 (1 em 100)
Q10	0,1 (1 em 10)



NOTA

A pontuação de qualidade baseia-se numa versão modificada do algoritmo Phred.

A pontuação de qualidade calcula um conjunto de preditores para cada identificação de bases e, em seguida, usa os valores do preditor para verificar a pontuação Q numa tabela de qualidade. As tabelas de qualidade são criadas para fornecer predições de qualidade perfeitamente precisas para ensaios gerados por uma configuração específica da plataforma de sequenciação e versão de química.

Após a determinação da pontuação Q, os resultados são registados nos ficheiros de identificação de bases.

Apêndice B Resolução de problemas

Resolução de mensagens de erro	45
Cancelar um ensaio iniciado	46
Ciclo de inicialização do instrumento	46
Executar uma verificação do sistema	47
Mitigação de fugas	49
Restaurar para as definições de fábrica	51

Resolução de mensagens de erro

Este anexo fornece instruções detalhadas para os diversos procedimentos de resolução de problemas. O seguinte diagrama mostra o fluxo de trabalho para resolver as mensagens de erro apresentadas durante a inicialização, configuração do ensaio, verificações pré-ensaio ou sequenciação, quando uma nova tentativa de efetuar esses procedimentos não resolve o problema.

Muitos erros podem ser resolvidos com um ciclo de inicialização: desligar o instrumento e voltar a ligá-lo. Outros requerem uma verificação do sistema para diagnosticar e resolver.





Estado da gestão de processos

Para resolver um problema de estado no ecrã Process Management (Gestão de processos):

- Se o ensaio estiver em curso, feche o ecrã Process Management (Gestão de processos), aguarde cerca de cinco minutos e volte a abrir.
- Se o ensaio não estiver em curso, realize um ciclo de inicialização do instrumento e volte a abrir o ecrã Process Management (Gestão de processos). Consulte Ciclo de inicialização do instrumento na página 46.

Cancelar um ensaio iniciado

Depois de iniciar um ensaio, pode cancelá-lo para terminar o ensaio, ejetar o cartucho e voltar ao ecrã Sequence (Sequenciação).



ATENÇÃO

O cancelamento de um ensaio é *final*. O software não pode retomar o ensaio e os consumíveis não podem ser reutilizados após a parte de verificações pré-ensaio da verificação do instrumento.

- Selecione Stop Run (Parar ensaio) e, em seguida, selecione Yes, cancel (Sim, cancelar).
 O ecrã Sequencing Canceled (Sequenciação cancelada) é apresentado com carimbo de data e hora em que o ensaio foi parado.
- 2 Selecione **Eject Cartridge** (Ejetar cartucho) para abrir a porta e ejetar o tabuleiro.
- 3 Remova o cartucho do tabuleiro.
- 4 Armazene ou elimine o cartucho, dependendo de quando ocorreu o cancelamento:

Circunstância	Instrução
Cancelou antes ou durante a verificação do instrumento e pretende reutilizar os consumíveis.	Deixe a célula de fluxo e o banco no interior do cartucho e reserve à temperatura ambiente até 1 hora.
Todas as outras circunstâncias.	Remova a célula de fluxo do cartucho. Elimine ambos os componentes de acordo com as normas regionais aplicáveis. • A célula de fluxo tem componentes eletrónicos. • O cartucho contém bancos e reagentes usados.

5 Selecione **Close Door** (Fechar porta) para recarregar o tabuleiro e voltar ao ecrã Sequencing (Sequenciação).

Os sensores confirmam a remoção do cartucho.

Ciclo de inicialização do instrumento

Fazer um ciclo de inicialização do instrumento permite encerrar e reiniciar o sistema em segurança para restaurar uma ligação perdida, alinhar uma especificação ou resolver uma falha de inicialização. As mensagens de software indicam quando deve efetuar um ciclo de inicialização para resolver erros ou avisos.

- 1 No menu, selecione Shut Down System (Encerrar sistema).
- 2 Se o sistema não encerrar, prima o botão de alimentação no lado esquerdo do instrumento até as luzes apagarem.
- Quando o botão de alimentação pulsar, prima o lado (O) para desligar do interruptor no painel traseiro.
 O botão de alimentação pode continuar a pulsar depois de desligar a alimentação.

Figura 12 Localização do interruptor



- 4 Aguarde 30 segundos.
- 5 Prima o lado (I) do interruptor.
- 6 Quando o botão de alimentação pulsar, prima-o.



Figura 13 Localização do botão de alimentação

Quando o sistema operativo for carregado, inicie sessão no Windows.
 O software de controlo é iniciado e inicializa o sistema. O ecrã inicial é apresentado quando a inicialização estiver concluída.

Executar uma verificação do sistema

Uma verificação do sistema demora cerca de 45 minutos e utiliza a célula de fluxo de teste reutilizável e o cartucho de teste reutilizável para resolver erros de verificação de pré-ensaio e outros problemas. Quatro testes do subsistema confirmam se os componentes estão devidamente alinhados e funcionais.

A manutenção e o funcionamento normal não requerem uma verificação do sistema.

- 1 Remova a célula de fluxo de teste reutilizável e o cartucho de teste reutilizável do armazenamento à temperatura ambiente.
- No menu do software de controlo, selecione System Check (Verificação do sistema).
 É apresentada a caixa de diálogo System Check (Verificação do sistema) com os testes mecânicos, térmicos, óticos e de sensor selecionados.
- 3 Selecione **Unload** (Descarregar) para abrir a porta do compartimento do cartucho e ejetar o tabuleiro.
- 4 Se presente, remova o cartucho usado do tabuleiro.
- 5 Inspecione a superfície de vidro da célula de fluxo reutilizável para verificar se contém detritos visíveis. Se contiver detritos, limpe da seguinte forma.
 - a Limpe a superfície de vidro com um toalhete com álcool.
 - b Seque com um pano de laboratório com libertação reduzida de pelos.
 - c Certifique-se de que a célula de fluxo não contém pelos nem fibras.

Em condições normais, a célula de fluxo de teste reutilizável não requer limpeza.

- 6 Segure a célula de fluxo de teste reutilizável pelos pontos de aderência com a etiqueta voltada para cima.
- 7 Introduza a célula de fluxo de teste reutilizável na ranhura na parte da frente do cartucho de teste reutilizável.

Um clique audível indica que a célula de fluxo está no devido lugar. Quando carregada corretamente, o gancho fica saliente no cartucho e o vidro é visível a partir da janela de acesso.



- a Carregar a célula de fluxo de teste reutilizável
- b Célula de fluxo de teste reutilizável carregada
- 8 Coloque o cartucho de teste reutilizável no tabuleiro de forma que a janela de acesso fique virada para cima e que a célula de fluxo fique dentro do instrumento.



Documento n.º 100000036024 v07 POR

Apenas para efeitos de investigação. Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico.

- 9 Selecione Load (Carregar) para carregar o cartucho de teste reutilizável e fechar a porta.
- 10 Selecione Start (Iniciar) para iniciar a verificação do sistema. Durante a verificação do sistema, o software ejeta e retrai o cartucho uma vez e apresenta o número restante de utilizações no ecrã. Ambos os componentes de teste reutilizáveis são válidos para até 130 utilizações.
- 11 Quando a verificação do sistema estiver concluída, veja se passou ou falhou no teste.

Resultado	Indicação	Ação
Os quatro testes passaram	O instrumento está a funcionar corretamente e é provável que o problema tenha a ver com os consumíveis ou com os bancos.	Configure um novo ensaio. Se armazenou os consumíveis do ensaio anterior, utilize-os para o novo ensaio.
Pelo menos um teste falhou	O instrumento pode ter um problema de hardware.	Contacte o Suporte Técnico da Illumina.

- 12 Selecione Unload (Descarregar) para ejetar o cartucho de teste reutilizável.
- 13 Remova o cartucho de teste reutilizável do tabuleiro.
- 14 Remova a célula de fluxo de teste reutilizável do cartucho.
- 15 Coloque os componentes de teste reutilizáveis na embalagem original e armazene à temperatura ambiente.
- 16 Feche a caixa de diálogo System Check (Verificação do sistema).

Mitigação de fugas

Se for detetada uma ligação fraca de fluídicos, um problema no cartucho ou uma fuga durante uma verificação de pré-ensaio ou sequenciação, o software termina o ensaio e notifica o utilizador. Depois de avaliar a fuga e limpar o instrumento, uma verificação do sistema confirma que o funcionamento normal pode continuar.

O tabuleiro de recolha na base do instrumento recolhe os fluidos derramados do cartucho. Contudo, os fluidos derramados podem atingir outras áreas do sistema. Em condições normais, o tabuleiro de recolha está seco.

Avaliar a fuga

1 Calce um novo par de luvas sem pó.



AVISO

Este conjunto de reagentes contém químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer lesões pessoais por inalação, ingestão, contacto da pele e contacto ocular. Use equipamento de proteção, incluindo proteção ocular, luvas e bata de laboratório adequados para o risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduos químicos e elimine-os de acordo com a legislação e os regulamentos locais, regionais e nacionais aplicáveis. Para obter informações adicionais relativas ao ambiente, saúde e segurança, consulte a FDS em support.illumina.com/sds.html.

- 2 Siga as instruções no ecrã para ejetar o cartucho.
- Inspecione o cartucho para verificar se existe fluido visível.
 Uma pequena quantidade de fluido (< 500 µl) na superfície de vidro da célula de fluxo é aceitável.
- 4 Se não for visível fluido (ou uma quantidade aceitável de fluido), *Limpar o instrumento*. Após a limpeza, uma verificação do sistema confirma o funcionamento normal.

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Apenas para efeitos de investigação. Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico.

- 5 Se uma quantidade significativa de fluido for visível na célula de fluxo, no cartucho ou no instrumento, encerre e desligue da seguinte forma e contacte o Suporte Técnico da Illumina.
 - a No menu, selecione Shut Down System (Encerrar sistema).
 - b Se o comando de encerramento não responder, prima sem soltar o botão de alimentação no lado esquerdo do instrumento até as luzes apagarem.
 - c Quando o botão de alimentação pulsar, prima o lado (O) para desligar do interruptor na parte de trás do instrumento.
 - d Aguarde 30 segundos.
 - e Desligue o cabo de alimentação da tomada de parede e, em seguida, da entrada de alimentação de CA no painel traseiro.
 - f Se aplicável, desligue o cabo Ethernet da tomada de parede e, em seguida, da porta Ethernet no painel traseiro.

Limpar o instrumento

- 1 Por motivos de segurança, encerre e desligue o instrumento:
 - a No menu, selecione Shut Down System (Encerrar sistema).
 - b Se o comando de encerramento não responder, prima sem soltar o botão de alimentação no lado esquerdo do instrumento até as luzes apagarem.
 - c Quando o botão de alimentação pulsar, prima o lado (O) para desligar do interruptor na parte de trás do instrumento.
 - d Aguarde 30 segundos.
 - e Desligue o cabo de alimentação da tomada de parede e, em seguida, da entrada de alimentação de CA no painel traseiro.
 - f Se aplicável, desligue o cabo Ethernet da tomada de parede e, em seguida, da porta Ethernet no painel traseiro.
- 2 Localize a porta do tabuleiro de recolha por baixo do compartimento do cartucho na parte frontal do instrumento e, em seguida, baixe a porta.



3 Abra o tabuleiro de recolha e remova o tapete do tabuleiro de recolha.



- 4 Limpe quaisquer fluidos residuais da parte inferior do tabuleiro com papel absorvente.
- 5 Elimine o tapete e outros consumíveis de acordo com as normas regionais. Para mais informações, consulte a Ficha de Dados de Segurança (FDS) em support.illumina.com/sds.html.
- 6 Coloque um novo tapete no tabuleiro de recolha.
- 7 Feche o tabuleiro de recolha e, em seguida, feche a porta do tabuleiro de recolha.
- 8 Seque qualquer fluido visível no instrumento ou em volta do mesmo com papel absorvente.
- 9 Ligue o instrumento da seguinte forma.
 - a Se aplicável, ligue o cabo Ethernet a uma porta Ethernet.
 - b Ligue o cabo de alimentação à entrada de alimentação de CA no painel traseiro e, em seguida, a uma tomada de parede.
 - c Prima o lado (I) do interruptor no painel traseiro.
 - d Quando o botão de alimentação pulsar, prima-o.
 - e Quando o sistema operativo for carregado, inicie sessão no Windows.

O software de controlo é iniciado e inicializa o sistema. O ecrã inicial é apresentado quando a inicialização estiver concluída.

10 Execute uma verificação do sistema para confirmar que o sistema está a funcionar normalmente. Passar na verificação do sistema indica que o instrumento pode retomar o funcionamento normal. Para obter instruções, consulte *Executar uma verificação do sistema* na página 47.

Restaurar para as definições de fábrica

Restaure o sistema para as definições de fábrica para desatualizar o software, recuperar de uma configuração indesejável ou eliminar dados de utilizador antes de devolver o instrumento à Illumina. Restaurar o sistema desinstala o software de controlo e limpa a unidade C.

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Apenas para efeitos de investigação. Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico.

- 1 Se o repositório de genomas de referência do Local Run Manager estiver na unidade C:
 - a Mova o repositório para D:\Illumina\Genomes ou para outra pasta local ou de rede que não esteja na unidade C.
 - b No Local Run Manager, reponha o caminho do repositório para D:\Illumina\Genomes ou outra pasta local ou de rede que não esteja na unidade C. Para obter instruções, consulte o *Guia do Software Local Run Manager (documento n.º 100000002702)*.
- 2 Reinicie o Windows.
- 3 Quando solicitado para escolher um sistema operativo, selecione **Restore to Factory Settings** (Restaurar para as definições de fábrica).

As opções do sistema operativo são apresentadas brevemente antes de avançar automaticamente com o iSeq Control Software.

- 4 Aguarde cerca de 30 minutos para a restauração terminar. A restauração pode incluir vários reinícios. Quando concluída, o sistema reinicia com as definições originais de fábrica, menos o software de controlo.
- 5 Instale o software de controlo:
 - a Transfira o programa de instalação do software a partir das páginas de suporte do Sistema de Sequenciação iSeq 100. Guarde o programa de instalação numa localização de rede ou numa pen USB.
 - b Copie o programa de instalação para C:\Illumina.
 - c Abra o iSeqSuiteInstaller.exe e siga as instruções para executar a instalação.
 - d Quando a atualização estiver concluída, selecione Finish (Terminar).
 - e Faça um ciclo de inicialização ao instrumento. Para obter instruções, consulte *Ciclo de inicialização do instrumento* na página 46.
- 6 Siga as instruções no ecrã para executar a primeira configuração, incluindo a verificação do sistema com o cartucho de teste reutilizável e a célula de fluxo de teste reutilizável.
- 7 Instale quaisquer módulos de análise do Local Run Manager:
 - a Mude para a conta sbsadmin do sistema operativo.
 - b Transfira os programas de instalação do software a partir das páginas de suporte do Local Run Manager. Guarde os programas de instalação numa localização de rede ou numa unidade USB.
 - c Copie o programa de instalação para C:\Illumina.
 - d Abra o programa de instalação (*.exe) e siga as instruções para executar a instalação.
 - e Quando a atualização estiver concluída, selecione Finish (Terminar).

Apêndice C Substituição avançada

Introdução	53
Receber um sistema de substituição	53
Preparar o sistema original para devolução	54
Devolver o sistema original	57

Introdução

Uma vez que o filtro de ar e o tabuleiro de recolha são as únicas peças reparáveis que o Sistema iSeq 100 tem, a Illumina utiliza um sistema de substituição avançada para resolver problemas que não possam ser resolvidos remotamente.

A substituição avançada substitui um sistema danificado ou com defeito por um sistema restaurado. Para minimizar o tempo de inatividade, receberá o sistema de substituição antes de devolver o original.

Figura 14 Descrição geral da substituição avançada



Disponibilidade regional

A Substituição avançada está disponível na maior parte das regiões. As outras regiões podem continuar a confiar nos técnicos de serviço no local. Pergunte ao Suporte Técnico da Illumina quais são os modelos de suporte disponíveis na sua região.

Receber um sistema de substituição

- 1 Após a falha da verificação do sistema e de outros esforços de resolução de problemas, contacte o Suporte Técnico da Illumina.
 - Se possível, realize outra verificação do sistema com um cartucho de teste reutilizável e uma célula de fluxo de teste reutilizável diferentes.
 - Disponibilize os resultados da verificação do sistema ao Suporte Técnico.

Se o Suporte Técnico não conseguir resolver o problema remotamente, será iniciada uma devolução e é realizada uma encomenda de um sistema de substituição.

- 2 Quando receber o sistema de substituição:
 - Desembale e instale de acordo com o Cartaz de Configuração do Sistema de Sequenciação iSeq 100 (documento n.º 100000035963).
 - Guarde a embalagem, que é utilizada para colocar o sistema original e os componentes de teste reutilizáveis para devolução.
 - Reserve os documentos de devolução, que incluem uma etiqueta de devolução UPS para todos os envios e uma fatura comercial (para envios internacionais).

Preparar o sistema original para devolução

Devolva o sistema original, o cartucho de teste reutilizável e a célula de fluxo de teste reutilizável à Illumina no prazo de 30 dias após a receção do instrumento de substituição.

Limpar dados e encerrar

- 1 Se o sistema estiver ligado, guarde e apague os dados da seguinte forma.
 - a No Explorador de ficheiros, copie os ficheiros e as pastas que pretende guardar numa unidade USB.
 - b Elimine quaisquer ficheiros e pastas que não pretenda partilhar com a Illumina.

A localização dos dados de sequenciação é definida pelo utilizador, mas a **unidade D** é a localização predefinida.

- 2 Encerre o sistema da seguinte forma.
 - a No menu, selecione Shut Down System (Encerrar sistema).
 - b Se o comando de encerramento não responder, prima sem soltar o botão de alimentação no lado esquerdo do instrumento até as luzes apagarem.
 - c Quando o botão de alimentação pulsar, prima o lado (O) para desligar do interruptor na parte de trás do instrumento.

Desligar os cabos

- 1 Se houver um cartucho dentro do instrumento, reinicie o sistema e remova o cartucho da seguinte forma.
 - a Prima o lado (I) do interruptor no painel traseiro.
 - b Quando o botão de alimentação pulsar, prima-o.
 - c Quando o sistema operativo for carregado, inicie sessão no Windows.
 - d No menu do software de controlo, selecione System Check (Verificação do sistema).
 - e Selecione **Unload** (Descarregar) para ejetar o cartucho e, em seguida, remova o cartucho do tabuleiro.
 - f Se a ejeção falhar, contacte o Suporte Técnico da Illumina para obter mais instruções.
 - g Selecione Load (Carregar) para retrair o tabuleiro vazio e fechar a porta.
 - h Feche a caixa de diálogo System Check (Verificação do sistema) e, em seguida, encerre o sistema.

Encerrar e iniciar o sistema é necessário para posicionar o cartucho para remoção.

2 Desligue o cabo de alimentação da tomada de parede e, em seguida, da entrada de alimentação de CA no painel traseiro.



- 3 Se aplicável, execute as seguintes ações.
 - Desligue o cabo Ethernet da tomada de parede e, em seguida, da porta Ethernet no painel traseiro.
 - ▶ Desligue o teclado e o rato das portas USB no painel traseiro.

Descontaminar o instrumento

Para enviar um instrumento, é necessário realizar o procedimento de descontaminação indicado, que a Illumina confirma que está concluído. Os sistemas operados num laboratório de biossegurança de nível 2 ou 3 e determinados perigos específicos ao local poderão exigir uma descontaminação adicional.

Descontaminar com lixívia

- 1 Calce um novo par de luvas sem pó.
- 2 Baixe o monitor do instrumento.
- 3 Abra cuidadosamente o compartimento da porta do cartucho pelas extremidades laterais.



- 4 Limpe completamente o compartimento da porta com um toalhete com lixívia:
 - Interior da porta
 - Exterior da porta
 - Dobradiças da porta

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Apenas para efeitos de investigação. Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico.

- 5 Feche a porta do compartimento do cartucho.
- 6 Localize a porta do tabuleiro de recolha por baixo do compartimento do cartucho na parte frontal do instrumento e, em seguida, baixe a porta.



7 Abra o tabuleiro de recolha e remova o tapete do tabuleiro de recolha.



- 8 Limpe quaisquer fluidos residuais da parte inferior do tabuleiro com papel absorvente.
- 9 Elimine o tapete e outros consumíveis de acordo com as normas regionais. Para mais informações, consulte a Ficha de Dados de Segurança (FDS) em support.illumina.com/sds.html.
- 10 Limpe o tabuleiro de recolha com um toalhete com lixívia.
- 11 Aguarde 15 minutos para que a lixívia atue.

Neutralizar com álcool

- Humedeça um pano ou papel absorvente com água.
 Qualquer grau de água é aceitável, incluindo água da torneira.
- 2 Limpe os seguintes componentes com o pano húmido ou papel absorvente:
 - Tabuleiro de recolha
 - > Porta do compartimento do cartucho (interior e exterior, incluindo as dobradiças)

A água impede a mistura da lixívia e do álcool.

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Apenas para efeitos de investigação. Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico.

- 3 Volte a limpar os seguintes componentes com um toalhete de álcool:
 - ► Tabuleiro de recolha
 - Porta do compartimento do cartucho (interior e exterior, incluindo as dobradiças)
 - O álcool remove a lixívia residual, que pode causar corrosão.
- 4 Certifique-se de que a porta do tabuleiro de recolha e a porta do compartimento do cartucho estão fechadas.
- 5 Limpe a bancada do laboratório à volta do instrumento com toalhetes com lixívia ou solução de lixívia.

Devolver o sistema original

Embalar o instrumento

- 1 Liberte o espaço adequado no laboratório para o instrumento e a embalagem.
- 2 Introduza um pequeno tapete de espuma entre o monitor baixo e o instrumento.
- 3 Coloque o saco de plástico cinzento sobre o instrumento.



- 4 Baixe a aba frontal da caixa branca.
- 5 Coloque o instrumento na caixa branca de forma que o instrumento fique virado para si.
- 6 Coloque o quadrado de espuma sobre o instrumento de forma que os lados mais finos da espuma assentem na frente e na traseira do instrumento. Certifique-se de que a espuma fica nivelada com a parte de cima da caixa.



7 Feche a aba frontal e, em seguida, a parte superior da caixa.

Embalar os componentes de teste reutilizáveis

- 1 Coloque o cartucho de teste reutilizável iSeq 100 na embalagem maior passível de ser fechada e sele.
- 2 Coloque a célula de fluxo de teste reutilizável iSeq 100 na caixa articulada.
- 3 Coloque a caixa articulada na embalagem mais pequena passível de ser fechada e sele.
- 4 Coloque ambas as embalagens passíveis de serem fechadas na Caixa de acessórios do Sistema de Sequenciação iSeq 100.



5 Feche a caixa de acessórios.

Enviar o sistema

1 Se a removeu, volte a colocar a base de espuma de proteção no fundo da caixa de envio castanha.



2 Levante a caixa branca pelas pegas (recomenda-se que seja levantada por duas pessoas) e, em seguida, coloque a caixa branca dentro da caixa castanha. Qualquer orientação é aceitável.



ATENÇÃO

A caixa branca tem de ser enviada dentro da caixa castanha. A caixa branca não foi concebida nem está identificada para envio.

- 3 Coloque a tampa de espuma de proteção sobre a parte superior da caixa branca.
- 4 Coloque a caixa de acessórios no centro da tampa de espuma.
- 5 Coloque o tapete de espuma preta por cima da caixa de acessórios.
- 6 Se o Suporte Técnico da Illumina tiver solicitado que devolva o cabo de alimentação, coloque-o em qualquer parte na caixa castanha.
- 7 Feche a caixa castanha e fixe com fita adesiva para envio.
- 8 Coloque a etiqueta de devolução sobre a etiqueta do envio original ou remova a etiqueta do envio original.



- 9 [Envio internacional] Anexe a fatura comercial à caixa de envio.
- 10 Envie o instrumento para a Illumina via UPS.
 - Se o seu laboratório tiver entregas diárias agendadas com a UPS, dê a caixa de envio com a etiqueta ao condutor.
 - Se o seu laboratório não tiver entregas diárias com a UPS, notifique o Apoio ao Cliente da Illumina para agendar o envio da devolução.

Índice

%

%Clusters PF 29, 32 %ocupação 29, 32 %Ocupação 20 %PF 20, 29, 32, 43

A

acesso remoto 26 adaptadores de índice i5 31 adaptadores de índice i7 31 ajuda do Windows 10 17 aiuda técnica 67 alcunha 15 alertas 33-34 algoritmo Phred 44 alimentação de CA entrada 3 tomada 37. 50. 54 alinhamento de especificação 46 alinhamento PhiX 43 amplificação 20 AmpliSeq Library PLUS para Illumina 20 análise estado 7 fora do instrumento 20 métodos 5.20 análise baseada na nuvem 1 análise de imagem 5 análise fora do instrumento 20 análise local 1 apoio ao cliente 67 armazenamento bancos diluídos 22 cartuchos descongelados 21 kits de reagentes 7 assistência técnica 67 atribuir nome alcunha do instrumento 14-15 folhas de amostras 14 nome do computador 6 atualizações automáticas 33 atualizações de firmware 34 atualizações manuais de software 33 avisos 6, 41, 46

B

bancos 1, 8 armazenamento 1 nM 22 concentrações iniciais 22 desnaturação 20 bancos de cadeias duplas 22 bancos de controlo 11 banhos com água 21 barra de estado 3 barra de luzes 3 barra de tarefas do Windows 11 bases G 43 bases, codificação de dados 42 BaseSpace Sequence Hub 1 carregamento de ficheiros 7 definições rápidas 12 requisitos da folha de amostras 14 batas de laboratório 21 blocos 39 botão de alimentação 3 BSL-2 55 BSL-3 55

С

cabo de alimentação 3, 37, 50, 54 cabo Ethernet 50, 54 caixa branca 57 caixa de acessórios 58 cartaz de configuração 2, 53 cartucho armazenamento 7, 46 eliminação 29, 32, 46 embalagem 21 orientação de carregamento 27, 30 preso no instrumento 54 cartucho de teste reutilizável 47, 54 cartucho preso 54 cavidades, célula de fluxo 8 célula de fluxo de teste reutilizável 54 célula de fluxo reutilizável 47 células de fluxo armazenamento 7 cavidades 8 eliminação 29, 32 número de ciclos 9 células de fluxo com padrão 8

Chromium abertura 26 ecrã em branco 26 ciclo de inicialização 17, 28, 31, 45 ciclos de congelamento-descongelamento 21 ciclos de índice 21 ciclos de leitura 31 ciclos extra 21 ciclos máximos 21 ciclos mínimos 21 clusters filtragem 43 localizações 39 otimizar 20 códiao de lote 10 compartimento de consumíveis 3 comprimentos de leitura 21 concentrações de carregamento 20 concentrações iniciais 22 condições de armazenamento 7, 10 configuração de ensaios opções de configuração 13 configuração do ensaio configurar opções 12 ecrãs 26, 29 configuração pela primeira vez 35, 51 configuração rápida de definições 12 conjunto do software 1, 5 consumíveis controlo 1, 8 eliminação 29, 32 embalagem 10 reutilizar 28, 31 verificação 27, 30 consumíveis de controlo 1, 8 conta de administrador 11 conta de utilizador 11 controlo de qualidade, bancos 22 conversão de ficheiros 39 converter ficheiros 39 corrosão, prevenção 56

D

dados de desempenho 27, 30 datas de expiração 10 datas de validade 35 definições editar 12-13 primeira configuração 11 definições de áudio 14-15

definições de configuração 41 definições de som 15 Definições do sistema 11, 14 definições localizadas 12-13 desatualizar software 51 desembalar 53 desempenho de desmultiplexação 43 DesignStudio 1 desligar 37, 46, 50, 54 desnaturação 20 desnaturação de bancos 20, 22 devolução de sistemas 53 devoluções documentos 53 etiquetas 59 prazos 54 diagnósticos 47 diluir bancos 20 disco rígido 6, 33 diversidade de bases 43 documentação 1, 67 domínios 13 domínios privados 13

E

ecrã em branco. Chromium 26 editar parâmetros de ensaios 28 editor de registo 34 **EEPROM 8** eliminação de dados 54 eliminar ensaios 6.33 embalagem 59 cartucho 21 célula de fluxo 25 devolução de envios 53 eliminação 25 encerrar 37, 46, 50, 54 endereços IP 6 ensaio design 1 ensaios armazenar no BaseSpace Sequence Hub 12-13 contagem 40 editar parâmetros 28 estado de verificação 6 monitorização no BaseSpace Sequence Hub 12-13 tamanho 15 tamanho dos 33

verificação de estado 29, 32 Ensaios contagem 6 envios internacionais 59 erros 6, 41, 46 mensagens 45 probabilidade 44 erros de verificação pré-ensaio 47 espaço em disco 6, 33 especificações do congelador 19 especificações do frigorífico 19 Ethernet 3.37 Ethernet, ativar 17 etiquetas 9 etiquetas de envio 59 extremidade emparelhada 31 extremidades emparelhadas 28

F

fabricante 10 falhar na verificação do sistema 47 fase e pré-fase 21 fases 42 fatura comercial 59 FDS 50.56 ficha de dados de segurança 49 Ficha de Dados de Segurança 29, 32, 50, 56 ficheiros BCL 6, 39 ficheiros de configuração 39 ficheiros de filtro 39 ficheiros de identificação de bases 20, 39 ficheiros de registo 41 ficheiros FASTQ 29 Ficheiros FASTQ 39 ficheiros InterOp 39 filtragem de clusters 43 filtros de ar 53 localização 35 peças sobresselentes 18 filtros de passagem 20, 29, 32 fluídicos 8 fluidos, fuga 49 folhas de amostra 27, 30, 41 folhas de amostras 29 atribuir nome 14 modelos 14 formamida 29.32 formato de ficheiro TSV 41 fragmentos de receita 6 fugas 49

G

garantia 18 gelo seco 21 Gestão de processos 29, 32-33 grupos de trabalho 27, 30 guia de pooling 43

ícone de ajuda 26, 29 ícones 6, 10 identificação de bases 5, 20, 43 IDT para índices Illumina TruSeg UD 43 iluminador 8 imagens 15, 39, 41-42 imagens miniatura, guardar 14 imagiologia 20 índice ciclos 9 índices leituras 31 sequências do adaptador 43 inicialização 37, 47, 51 falha 46 início de ensaio automático 28. 31 instalação do software 33 instrumento instalação 53 peso 37 intensidades 42 interface elétrica 8, 25 interruptor 3, 37, 46

J

janela de acesso, cartucho 8 juntas 25

Κ

kit de testes 18 Kit de testes do Sistema iSeq 100 18, 47 kits 7, 18 números de catálogo 18 kits de preparação de bancos 1, 20 kits de reagentes 7
L

lavagens 8 leitura individual 28, 31 ligações perdidas 46 limiares de qualidade 43 limites de utilização, componentes de teste reutilizáveis 5, 47 limpar células de fluxo 47 linhas de comando 17 líquidos, fuga 49 lixívia 55 Local Run Manager 5 acesso remoto 26 criar ensaios 26 definições rápidas 12 documentação 1, 28 estado 7 folhas de amostras criar 14 manuais de fluxo de trabalho 28 módulos 33 transferências 33 localizações anfitriãs 12-13

Μ

manifesto de amostra 41 maximizar software de controlo 11 medições de pureza 43 métodos de normalização 22 métrica de produção 29, 32 métrica total de produção projetada 29, 32 miniaturas 15 modelo, folha de amostras 14 modelo, folhas de amostras 29 modelos da folha de amostras 29 modelos de suporte 53 Modo Local Run Manager, acerca de 26 modo Manual acerca de 29 ficheiros FASTQ 29 Ficheiros FASTQ 39 monitor 3 monitorização remota 27, 30 mover 3, 37

Ν

nanopoços 42

Nextera DNA Flex 20 Nextera Flex for Enrichment 20 NGS 1 nome do computador 6 nome do ensaio 31 nucleótidos 20, 42 números de catálogo 18 números de lote 10 números de peça 10 números de série 6, 40

0

óculos de segurança 21 opções de análise de dados 12-13 opções do adaptador, Wi-Fi 17 orientações do Índice 2 29 orientações i5 29 otimizar concentração de carregamento 20

Ρ

páginas de suporte 33 paragem de ensaios 46 parar ensaios 46 passar na verificação do sistema 47 passos no instrumento 20 pasta de ensaio 40 pasta de saída 7, 28, 31, 33, 39 acesso 11 localização predefinida 16, 40 pasta de saída predefinida 16, 28 pasta do ensaio 16.33 peças reparáveis 53 percentagem ocupada 20, 29, 32 peso 37 PF 43 PhiX 11, 18 pontos de aderência 8, 25 pontuação de qualidade 20 pontuações Q 29, 32, 44 porta Ethernet 50, 54 portas abertura manual 55 design 4 fechar 27, 30 portas USB 3, 34 PPF 21 pré-fase 42 predefinições de fábrica 51 preparação do centro clínico 2, 16, 37, 57

Apenas para efeitos de investigação. Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico. processo incompleto 45 processo interrompido 45 programa de instalação do conjunto do sistema 33

Q

Q30 29, 32 químicos perigosos 10, 29, 32

R

rato 3, 11 reagentes 7-8 armazenamento 7 compatibilidade do software 9 eliminação 29, 32, 46 reagentes iSeq 100 i1 18 reagentes usados 4, 8 receitas, software 33 rede definições predefinidas 16 diretrizes 16 reiniciar 51 reservatório do banco 25 resíduos eletrónicos 29, 32, 46 restauração 53 retomar ensaios 46 RFID 2, 8 RSB de substituição 22 RunInfo.xml 39

S

sbsadmin vs. sbsuser 11 segurança e conformidade 2 Seletor de protocolo personalizado 2 sensor ótico 8 sensores 46 sensores CMOS 8, 25, 40 separador Customization (Personalização) 11, 14 separador Network Access (Acesso de rede) 11, 16 separador Settings (Definições) 11-12 sequenciação ciclos 9 fluxo de trabalho 1 leituras 9 sequenciação com um corante 20, 42-43 sequências do adaptador 14, 29

Sequencing Analysis Viewer 39 silenciar 15 sistema operativo 37, 47, 51 sítio Web 33 sobresselentes 35 software alertas de atualização 34 compatibilidade do reagente 9 definições de atualização 14-15 desatualizar 51 instalação 33 software de Conversão bcl2fastq2 39 subscrições empresariais 13 subsistemas 47 substituto RSB 18 Suporte proativo da Illumina 12-13

T

tabelas de qualidade 44 tabuleiro 4 tabuleiro de cartuchos 4 tabuleiro de recolha 49 localização 50, 56 porta 50, 56 tapetes 18, 53 Tampão de ressuspensão 18, 22 tapetes 18, 50, 56 teclados 3, 11 técnicos de serviço no local 53 tipos de conta 11 tipos de leitura 21. 31 toalhetes com lixívia 18 toalhetes de álcool 18 tomada de parede 50, 54 TruSeg DNA Nano 20 TruSeg DNA PCR-Free 20

U

unidade C 16, 51 unidade D 6, 16, 33, 54 unidades externas 16 unidades internas 16 Universal Copy Service 5, 7, 16, 33 UPS 59

V

ventiladores 35

Documento n.º 100000036024 v07 POR

Apenas para efeitos de investigação. Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico. verificação do fluxo 28, 31 verificação do instrumento 28, 31 verificações do sistema 45, 49, 51 duração 47 resultados 47 versões de software 9 voltar a ligar 51

W

Wi-Fi, ativar 17 Windows contas 11 definições 17 início de sessão 37, 47, 51

Assistência técnica

Para obter assistência técnica, contacte o Suporte Técnico da Illumina.

Sítio Web:www.illumina.comE-mail:techsupport@illumina.com

Números de telefone do Apoio ao Cliente da Illumina

Região	Número gratuito	Regional
América do Norte	+1.800.809.4566	
Alemanha	+49 8001014940	+49 8938035677
Austrália	+1.800.775.688	
Áustria	+43 800006249	+43 19286540
Bélgica	+32 80077160	+32 34002973
China	400.066.5835	
Coreia do Sul	+82 80 234 5300	
Dinamarca	+45 80820183	+45 89871156
Espanha	+34 911899417	+34 800300143
Finlândia	+358 800918363	+358 974790110
França	+33 805102193	+33 170770446
Hong Kong, China	800960230	
Irlanda	+353 1800936608	+353 016950506
Itália	+39 800985513	+39 236003759
Japão	0800.111.5011	
Noruega	+47 800 16836	+47 21939693
Nova Zelândia	0800.451.650	
Países Baixos	+31 8000222493	+31 207132960
Reino Unido	+44 8000126019	+44 2073057197
Singapura	+1.800.579.2745	
Suécia	+46 850619671	+46 200883979
Suíça	+41 565800000	+41 800200442
Taiwan, China	00806651752	
Outros países	+44 1799534000	

Fichas de dados de segurança (FDS)—Disponíveis no sítio Web da Illumina em support.illumina.com/sds.html.

Documentação do produto-Disponível para transferência em support.illumina.com.



Illumina 5200 Illumina Way San Diego, California 92122 EUA +1.800.809.ILMN (4566) +1.858.202.4566 (fora da América do Norte) techsupport@illumina.com www.illumina.com

Apenas para efeitos de investigação. Não se destina a utilização em procedimentos de diagnóstico.

© 2020 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

illumina