

Инструмент MiSeqDx

Наръчник за справка за MOS v4

ФИРМЕНА ИНФОРМАЦИЯ НА ILLUMINA

Документ № 200010452 v01

Октомври 2023 г.

ЗА IN VITRO ДИАГНОСТИЧНА УПОТРЕБА.

Настоящият документ и съдържанието му са собственост на Illumina, Inc. и нейните филиали („Illumina“) и са предназначени само за употреба по силата на договор от страна на клиента ѝ във връзка с използването на продукта(ите), описан(и) в настоящия документ, и с никаква друга цел. Този документ и съдържанието му не трябва да се използват или разпространяват за никаква друга цел и/или по друг начин да бъдат съобщавани, разкривани или възпроизвеждани по какъвто и да е начин без предварителното писмено съгласие от страна на Illumina. Illumina не предоставя посредством този документ никакъв лиценз за свой патент, търговска марка, авторско право или права по силата на общото право, нито подобни права на която и да е трета страна.

Софтуерът е лицензиран за вас при условията и реда на лицензионното споразумение за софтуер за секвениране Illumina в отделен документ. Ако не сте съгласни с условията в тях, Illumina не ви лицензира Софтуера и не трябва да използвате или инсталирате Софтуера

Инструкциите в този документ трябва да се следват строго и изрично от страна на квалифициран и правилно обучен персонал, за да се гарантират правилната и безопасната употреба на продукта(ите), описан(и) в настоящия документ. Цялото съдържание на този документ трябва да бъде прочетено и разбрано напълно, преди да се използва(т) такъв(такива) продукт(и).

АКО ВСИЧКИ ИНСТРУКЦИИ, СЪДЪРЖАЩИ СЕ В НАСТОЯЩИЯ ДОКУМЕНТ, НЕ БЪДАТ НАПЪЛНО ПРОЧЕТИ И ИЗРИЧНО СПАЗВАНИ, ТОВА МОЖЕ ДА ДОВЕДЕ ДО ПОВРЕДА НА ПРОДУКТ(ИТЕ), НАРАНЯВАНЕ НА ЛИЦАТА, ВКЛЮЧИТЕЛНО НА ПОТРЕБИТЕЛИТЕ ИЛИ ДРУГИ ЛИЦА, И УВРЕЖДАНЕ НА ДРУГО ИМУЩЕСТВО.

ILLUMINA НЕ ПОЕМА НИКАКВА ОТГОВОРНОСТ, ПОРОДЕНА ОТ НЕПРАВИЛНО ИЗПОЛЗВАНЕ НА ПРОДУКТА/ИТИТЕ, ОПИСАНИ ТУК (ВКЛЮЧИТЕЛНО ЧАСТИ ИЛИ СОФТУЕР) ИЛИ ИЗПОЛЗВАНЕ НА ТАКЪВ(ИВА) ПРОДУКТ(И) ИЗВЪН ОБХВАТА НА ИЗРИЧНИТЕ ПИСМЕНИ ЛИЦЕНЗИ ИЛИ РАЗРЕШЕНИЯ, ПРЕДОСТАВЕНИ ОТ ILLUMINA ВЪВ ВРЪЗКА С ПОЛУЧАВАНЕТО НА ТАКЪВ(ИВА) ПРОДУКТ(И) ОТ СТРАНА НА КЛИЕНТА.

© 2023 г. Illumina, Inc. Всички права запазени.

Всички търговски марки са собственост на Illumina, Inc. или съответните си притежатели. За конкретна информация относно търговските марки вижте www.illumina.com/company/legal.html.

Този софтуер съдържа библиотеката SeqAn, която е лицензирана за Illumina и се разпространява под следния лиценз:

Авторско право © 2010, Knut Reinert, FU Berlin Повторното разпространение и използването в изходни и двоични форми, със или без модификация, са разрешени, при условие че са изпълнени следните условия:

Повторните разпространения на изходния код трябва да запазят горепосоченото известие за авторските права, този списък с условия и следния отказ от отговорност.

Повторните разпространения в двоична форма трябва да възпроизвеждат горното известие за авторските права, този списък с условия и следния отказ от отговорност в документацията и/или други материали, предоставени с предаването.

Нито името на FU Berlin или Knut Reinert, нито имената на сътрудниците ѝ, могат да бъдат използвани за одобряване или популяризиране на продукти, получени от този софтуер, без специално писмено разрешение.

НАСТОЯЩИЯТ СОФТУЕР СЕ ПРЕДОСТАВЯ ОТ ПРИТЕЖАТЕЛИТЕ НА АВТОРСКИТЕ ПРАВА И ЛИЦАТА С ПРИНОС КЪМ НЕГО „КАКТО Е“ И ВСИЧКИ ИЗРИЧНИ ИЛИ ПОДРАЗБИРАЩИ СЕ ГАРАНЦИИ, ВКЛЮЧВАЩИ, НО НЕ ОГРАНИЧАВАЩИ СЕ ДО, ПОДРАЗБИРАЩИ СЕ ГАРАНЦИИ ЗА ПРОДАВАЕМОСТ И ПРИГОДНОСТ ЗА ОПРЕДЕЛЕНА ЦЕЛ, СЕ ОТМЕНЯТ. В НИКАКЪВ СЛУЧАЙ ПРИТЕЖАТЕЛЯТ НА АВТОРСКИТЕ ПРАВА ИЛИ ЛИЦАТА, ИМАЩИ ПРИНОС, НЕ НОСЯТ ОТГОВОРНОСТ ЗА ПРЕКИ, НЕПРЕКИ, ИНЦИДЕНТНИ, СПЕЦИАЛНИ, ИЗКЛЮЧВАЩИ ИЛИ ПОСЛЕДВАЩИ ЩЕТИ (ВКЛЮЧИТЕЛНО, НО НЕ САМО, ПОЛУЧАВАНЕ ИЛИ ЗАМЯНА НА СТОКИ ИЛИ УСЛУГИ, ЗАГУБА НА ПРИГОДНОСТ ЗА УПОТРЕБА, ДАННИ ИЛИ ПОЛЗИ; ИЛИ ПРЕКЪСВАНЕ НА ТЪРГОВСКА ДЕЙНОСТ), ПРИЧИНЕНИ ПО КАКЪВТО И ДА БИЛО НАЧИН И НЕЗАВИСИМО ОТ ПРИЧИНИТЕ И ВИДА НА ОТГОВОРНОСТТА, НЕЗАВИСИМО ДАЛИ Е ПО СИЛАТА НА ДОГОВОР, СТРОГА ОТГОВОРНОСТ, ИЛИ НЕПРАВОМЕРНИ ДЕЙСТВИЯ (ВКЛЮЧИТЕЛНО НЕБРЕЖНОСТ ИЛИ ДРУГИ) В РЕЗУЛТАТ НА УПОТРЕБАТА НА ТОЗИ СОФТУЕР ДОРИ АКО ИМА СЪВЕТ ЗА ВЪЗМОЖНОСТ ЗА ТАКИВА ЩЕТИ.

Хронология на редакциите

Документ №	Дата	Описание на промяната
Документ № 200010452 v01	Октомври 2023 г.	<ul style="list-style-type: none"> Актуализирани препратки към Локална настройка на изпълняване Актуализиран е разделът на услугата за проактивно наблюдение на Illumina, за да включи функцията Send Instrument Health Functionality (Изпращане на информация за изправност на инструмента) за поддръжка и отстраняване на неизправности. Актуализирана е процедурата за измиване с шаблонна линия. Добавена е бележка към предпочитанията за имейл, дефинираща параметрите на неуспех при разчитане на RFID.
Документ № 200010452 v00	Ноември 2021 г.	Първоначално издание за поддръжка на MOS v4.0 и Local Run Manager v3.0.

Съдържание

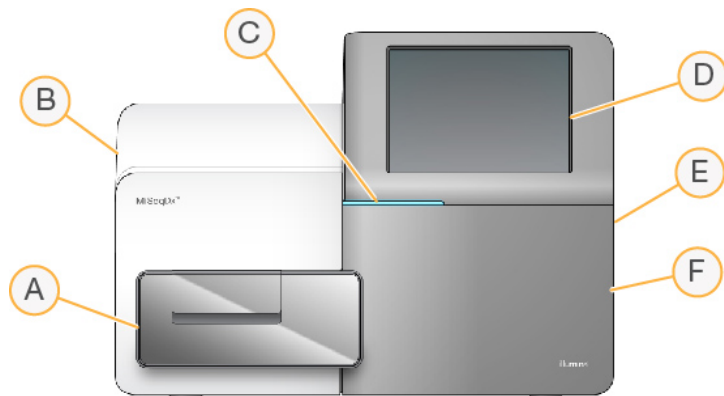
Хронология на редакциите	iii
Общ преглед	1
Компоненти	1
Софтуер на MiSeqDx	3
Софтуер Local Run Manager	6
Изисквано дисково пространство	6
Правила за софтуерни ограничения	6
Антивирусен софтуер	7
Режим на секвениране	7
Първи стъпки	9
Започнете MiSeqDx	9
Задаване на опцията за измиване след изпълняване	9
Задаване на опцията Автоматично стартиране на изпълняване	10
Включване на проактивната поддръжка на Illumina	10
Задаване на предпочитания за имейл	11
Посочване на местоположение на папката за изходни файлове по подразбиране	12
Необходими консумативи	13
Съхранение и обработка	14
Секвениране	15
Въведение	15
Продължителност на изпълняването	15
Генериране на клъстери	15
Секвениране	15
Анализ	15
Приготвяне на касетата с реагенти	16
Влезте и следвайте подканите за секвениране	18
Почистете поточната клетка	18
Зареждане на поточната клетка	20
Зареждане на реагенти	21
Мониториране на изпълняването	24
Извършване на измиване след изпълняване	26
Поддръжка	32

Честота на поддръжка	32
Профилактика	32
Извършване на измиване за поддръжка	32
Извършване на измиване в режим на готовност	35
Изключване на инструмента	38
Отстраняване на неизправности	39
Въведение	39
Bundle Logs (Обединени хронологии) за отстраняване на неизправности	39
Извършване на проверка на системата	40
Пауза или спиране на изпълняване	41
Ръчно повдигане на сиперите на касетата с реагенти	42
Разрешаване на грешки в настройката на изпълняването	42
Разрешаване на неуспешно разчитане на RFID	43
Предотвратяване на рестартирания по време на изпълняване	45
Отстраняване на неизправности при грешки в скоростта на потока	45
Извършване на обемен тест	46
Разрешаване на температурни грешки с охладител на реагент	47
Разрешаване на грешки в анализа на Local Run Manager	47
Конфигуриране на настройките на системата	48
Изходни папки	51
Папки за изпълняване	51
Техническа помощ	52

Общ преглед

Компоненти

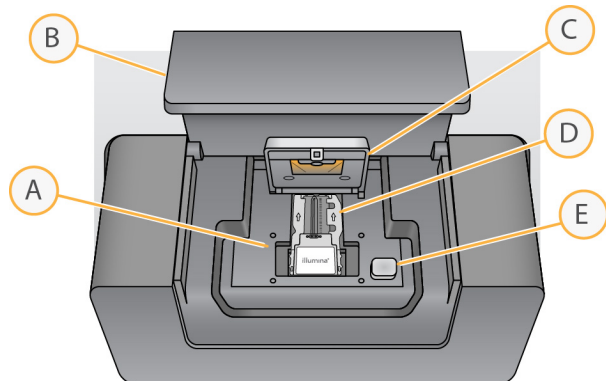
MiSeqDx има следните външни компоненти:



- A. **Отделение за поточни клетки** – съдържа стойката за поточни клетки, в която се помещава поточната клетка през изпълняването. Моторите на стойката за поточна клетка преместват стойката от затворения оптичен модул за зареждане на поточна клетка и връщат стойката, когато започне изпълняването.
- B. **Затворен оптичен модул** – съдържа оптични компоненти, които позволяват изобразяване на поточната клетка.
- C. **Лента за състояние** – посочва състоянието на поточната клетка като готово за секвениране (зелено), обработка (синьо) или нуждаещо се от внимание (оранжево).
- D. **Монитор на сензорния екран** – показва интерфейса на контролния софтуер за системната конфигурация и конфигуриране на изпълняването.
- E. **Външен USB порт** – улеснява прехвърлянето на файлове и данни към компютъра на инструмента от монитора със сензорен екран.
- F. **Отделение за реагент** – съхранява реагентите при подходящи температури, разтвори за измиване и бутилката за използваните реагенти. Магнитна ключалка заключва вратата на отделението за реагенти.

Интерфейсът на MiSeqDx Ви води през стъпките за настройка на изпълняването, като използва монитора със сензорен екран. Компонентите за зареждане на изпълняване изискват достъп до отделението за реагенти и отделението за поточни клетки.

Отделение за поточни клетки

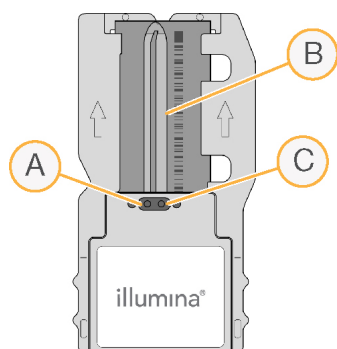


- A. Стойка за поточни клетки
- B. Врата на отделение за поточни клетки
- C. Ключалка за поточни клетки
- D. Поточна клетка
- E. Бутон за отключване на ключалка за поточни клетки

В отделението за поточни клетки се намират стойката за поточни клетки, термичната станция и връзките за флуидика към поточната клетка. В стойката за поточни клетки се намират поточната клетка и ключалката за поточна клетка. Когато ключалката за поточна клетка се затвори, два щифта близо до пантата на ключалката позиционират автоматично поточната клетка.

Термичната станция, разположена под стойката за поточни клетки, контролира промените в температурата на поточните клетки, необходима за генериране на кълъстери и секвениране.

Поточна клетка



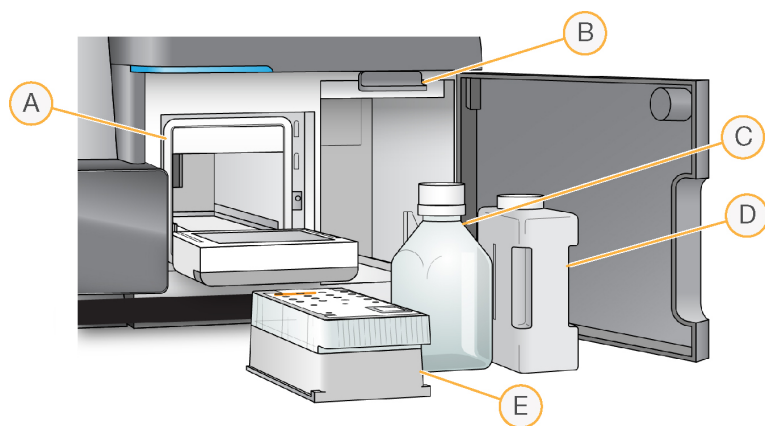
- A. Изходен порт
- B. Област за изобразяване
- C. Входен порт

Поточната клетка MiSeqDx е субстрат на базата на стъкло за еднократна употреба, върху който се генерират кълъстери и се извършва реакцията на секвениране.

Реагентите влизат в поточната клетка през входния порт, преминават през зона за изобразяване с единична линия и след това излизат от поточната клетка през изходния порт. Отпадъците, излизащи от поточната клетка, се доставят в бутилката за отпадъци.

По време на изпълняване на секвениране единичната лента се изобразява в малки зони за изображения, наречени плочки.

Отделение за реагенти



- A. Охладител за реагенти
- B. Дръжка на сипер (показана в повдигнато положение)
- C. Бутилка с MiSeqDx SBS Solution (PR2)
- D. Бутилка за отпадъци
- E. Касета с реактиви

Отделението за реагенти съдържа охладителя за реагенти и позиции за бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) и бутилката за отпадъци.

По време на изпълняване охладителят за реагенти съдържа касета с реагенти за еднократна употреба. По време на измиването на инструмента охладителят за реагенти съдържа таблата за измиване. Софтуерът автоматично спуска сиперите във всеки резервоар на касетата с реагенти в подходящото време по време на изпълняване в зависимост от процеса, който се извършва.

Вдясно от охладителя за реагенти има два формовани слота, един за бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) и един за бутилката за отпадъци. Дръжката на сипера заключва бутилките на място и спуска подходящия сипер във всяка бутилка.

Реагентите се изпомпват през сиперите и линиите за флуидика и след това към поточната клетка. Отпадъците от реагенти се доставят в бутилката за отпадъци през целия процес.

Софтуер на MiSeqDx

Софтуерният пакет на инструмента включва интегрирани приложения, които извършват изпълнявания на секвениране, анализ в инструмента и свързани функции.




- **MiSeq Operating Software (MOS)** – контролира работата на инструмента. Интерфейсът на MiSeq Operating Software (MOS) Ви води през стъпките за зареждане на поточната клетка и реагентите преди започване на изпълняване. Преглед на статистиката за качеството се появява с напредването на изпълняването. Софтуерът се инсталира и изпълнява на инструмента.
- По време на изпълняването MOS управлява етапа на поточната клетка, разпределя реагенти, контролира температурите на поточните клетки и заснема изображения на клъстери върху поточната клетка. MOS извършва изпълняването съгласно параметрите, посочени в софтуера Local Run Manager.
- **Софтуер Real-Time Analysis (RTA)** – извършва анализ на изображения и обозначаване на бази и задава резултат за качество на всяка база за всеки цикъл. Изображенията се съхраняват временно в папката за изпълняване за обработка от RTA и след това автоматично се изтриват, когато RTA анализът приключи.
- **Софтуер Local Run Manager** – интегрирано в инструмента решение, използвано за създаване на изпълняване, наблюдение на състоянието, анализ на данни за секвениране и преглед на резултати. Local Run Manager също така проследява информация за проби и контролира разрешенията на потребителя. Софтуерът се изпълнява на компютър на инструмента и се преглежда през уеб браузър. Вижте [Софтуер Local Run Manager на стр. 6](#).

Икони за състояние

Всеки път, когато инструментът се инициализира или стартира, икона за състояние на интерфейса на контролния софтуер показва промяна в условията. Число на иконата показва броя на условията за състояние.

Когато състоянието на изпълняване се промени, иконата мига, за да ви предупреди. Изберете иконата, за да прегледате описанието на състоянието. Изберете **Acknowledge** (Приемане), за да изчистите съобщението, и **Close** (Затваряне), за да затворите диалоговия прозорец.

Филтрирайте видовете съобщения, които се появяват в прозореца за състояние, чрез избиране на иконите по горната граница на прозореца. Избирането на икона превключва условието за показване или скриване.

Икона за състояние	Име на състояние	Описание
	Състояние ОК	Без промяна. Системата работи нормално.
	Предупреждение	Предупрежденията не спират изпълняване. Някои предупреждения обаче изискват действия, преди да продължите.
	Грешка	Грешките обикновено спират изпълняване и обикновено изискват действие, преди да продължите с изпълняването.

Сензорни индикатори

Три сензорни индикатора в основата на всеки екран на интерфейса представляват състоянието на компонент на инструмента.

Фигура 1 Сензорни индикатори



Отляво надясно сензорните индикатори представляват следните компоненти:

- Температура на охладителя за реагенти в °C
- Температура на поточната клетка в °C

Софтуер Local Run Manager

Софтуерът Local Run Manager е интегрирано на инструмента решение за записване на проби за изпълняване, посочване на параметри за изпълняването, мониторинг на състоянието, анализ на данни за секвениране и преглед на резултатите.

В допълнение Local Run Manager контролира удостоверяването на потребители, като предоставя различни разрешения на ниво достъп на потребителите. Разрешенията се запазват във файл с база данни, към който MiSeqDx препраща. Local Run Manager може също да наблюдава изпълнението на секвенирането. За повече информация вижте *Local Run Manager v4 Software Guide for MiSeqDx (документ № 200046657)*.

Секвениране по време на анализ

Изчислителните ресурси на инструмента MiSeqDx са предназначени за секвениране или анализ. При Local Run Manager, ако на MiSeqDx се стартира ново изпълняване на секвениране, преди да завърши вторичният анализ на по-ранно изпълняване, се появява диалогов прозорец за потвърждение. След като потвърдите, че искате новото изпълняване на секвениране да започне, вторичният анализ на по-ранното изпълняване се спира, докато новото изпълняване завърши секвенирането.

След като новото изпълняване завърши секвенирането, вторичният анализ на по-ранното изпълняване автоматично стартира отново от началото.

Изисквано дисково пространство

Интегрираният компютър на инструмента има капацитет за съхранение от приблизително 650 GB.

Преди да се започне изпълняване на дейност, софтуерът проверява наличното дисково пространство. Ако няма достатъчно дисково пространство за изпълняването на дейност, се появява подкана от софтуера. Съобщението посочва колко дисково пространство е необходимо за изпълняването на дейност и колко дисково пространство трябва да се освободи, преди да продължи изпълняването на дейност.

Ако бъдете подканени да освободите дисково пространство, преместете или изтрийте по-старите папки за изпълняване, както е подходящо.

Правила за софтуерни ограничения

Правилата за софтуерни ограничения на Windows (SRP) използват правила, които да позволят само на конкретен софтуер да се изпълнява. За MiSeqDx правилата за SRP се базират на сертификати, имена на файлове, разширения на файлове и директории.

По подразбиране SRP са включени, за да се предотврати изпълняването на нежелан софтуер на контролния компютър. Само потребител sbsadmin може да изключи SRP.

ИТ представител или системен администратор може да добавя или премахва правила, за да персонализира нивото на сигурност. Ако системата бъде добавена към домейн, локалният обект с групови правила (GPO) може автоматично да промени правилата и да изключи SRP.

За информация относно конфигуриране на SRP вижте [Illumina Сигурност и работа в мрежа на контролния компютър на инструмента](#).



ВНИМАНИЕ

Изключването на SRP предотвратява защитата, която осигурява. Промяната на правилата отменя защитите по подразбиране.

Антивирусен софтуер

Силно препоръчваме антивирусен софтуер по ваш избор за предпазване на контролния компютър на инструмента от вируси. Ще трябва да временно изключите правилата за софтуерни ограничения на Windows (SRP), докато инсталирате антивирусния софтуер.

За информация относно конфигуриране на антивирусния софтуер и SRP вижте [Сигурност и работа в мрежа на контролния компютър на инструмент на Illumina](#).

Режим на секвениране

Когато стартирате инструмента, се показва екранът **Choose an operating system** (Избор на операционна система) на Windows. Този екран ви позволява да изберете режима на секвениране на операционната система, в който да стартирате – изследователски (RUO) или диагностичен (Dx). Ако изчакате 10 секунди, се избира автоматично режимът по подразбиране. Можете да промените режима по подразбиране и таймера за режим на зареждане по подразбиране по всяко време.

- След като изберете режим, трябва да рестартирате системата, за да го превключите. Вижте [Рестартирайте софтуера на системата на стр. 8](#).
- Когато превключвате между режим RUO и Dx, ще бъдете подканени да извършите измиване след изпълняване. Състоянието на измиване не се запазва между режимите.

За да използвате функцията за рестартиране, се изисква ниво на достъп на администратор на Windows или рестартиране в изследователски режим за обикновен потребител.



ВНИМАНИЕ

Възстановяване на фабричните настройки на ОС (RUO/Dx) е предназначено за използване само от екипа за полево обслужване на Illumina. Тази опция изтрива за постоянно цялата информация на диск С и възстановява операционната система в първоначалното ѝ състояние. Избирането на тази опция изисква полеви сервизен инженер на Illumina да възстанови системата. След като бъде стартиран, процесът на възстановяване не може да бъде отменен. Изберете тази опция само ако е препоръчана от полевото сервизно обслужване на Illumina.

За да промените режима на стартиране по подразбиране:

1. Изберете **Change defaults or choose other options** (Промяна на настройките по подразбиране или избор на други опции).
2. От екрана Options (Опции) изберете **Choose a default operating system** (Избор на операционна система по подразбиране).
3. Изберете предпочитаната опция за стартиране.
4. Изберете стрелката Back (Назад), за да се върнете към екрана **Options** (Опции).

За да промените таймера на режима на стартиране по подразбиране:

1. Изберете **Change defaults or choose other options** (Промяна на настройките по подразбиране или избор на други опции).
2. От екрана Options (Опции) изберете **Change the timer** (Промяна на таймера).
3. От екрана Change the timer (Промяна на таймера) изберете желанния таймер.
4. Изберете стрелката Back (Назад), за да се върнете към екрана **Options** (Опции).



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

В Windows 10, ако потребител рестартира системата, само този потребител ще може да влезе в системата след стартиране.

Рестартирайте софтуера на системата

Използвайте командата Reboot (Рестартиране), за да рестартирате системния софтуер. Няма изискване за рестартиране на софтуера като част от редовната поддръжка.

- От главното меню изберете **Reboot** (Рестартиране).

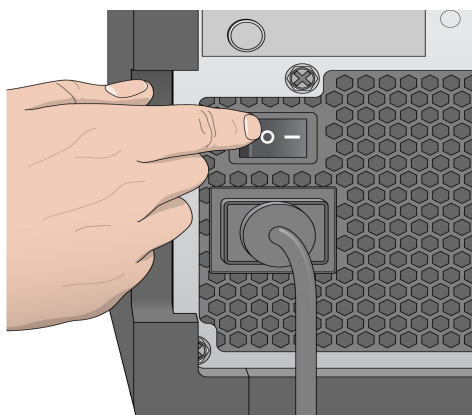
Първи стъпки

Започнете MiSeqDx

1. Преместете превключвателя за захранване на гърба на инструмента в позиция | (включено).

ЗАБЕЛЕЖКА За най-добро представяне оставете инструмента включен непрекъснато. Ако обаче инструментът трябва да бъде изключен, вижте [Изключване на инструмента на стр. 38](#). Изчакайте *минимум* 60 секунди, преди да преместите превключвателя за захранване обратно в позиция ВКЛ.

Фигура 2 Местоположение на превключвателя за захранване



2. Изчакайте системата да се зареди и след това изберете операционната система и влезте. Ако е необходимо, консултирайте се с администратора на вашата база за потребителско име и парола.
За повече информация относно операционната система и опциите за режим на секвениране вижте [Режим на секвениране на стр. 7](#)
Когато операционната система е заредена, MiSeq Operating Software (MOS) стартира и инициализира инструмента автоматично. Имайте предвид, че ако е избран режим RUO, MiSeq Control Software (MCS) стартира автоматично.
3. При Local Run Manager, ако управлението на потребителите е активирано, влезте с потребителско име и парола за Local Run Manager и изберете **Next** (Напред).

Задаване на опцията за измиване след изпълняване

Измиване на инструмента е необходимо след всяко изпълняване. Софтуерът изисква да се извърши измиване, преди да се настрои следващо изпълняване. Опцията за измиване след изпълняване определя кой тип измиване се извършва по подразбиране. Измиване след

изпълняване отнема около 30 минути. Измиване за поддръжка отнема около 90 минути.

1. От главното меню изберете **System Settings** (Настройки на системата).
2. Изберете раздела **Run Settings** (Настройки на изпълняване).
3. Изберете **Post Run Wash** (Измиване след изпълняване) или **Maintenance Wash** (Измиване за поддръжка).

Задаване на опцията Автоматично стартиране на изпълняване

MiSeqDx може да бъде конфигуриран да стартира изпълняването на секвениране автоматично след успешна автоматична проверка. Local Run Manager За да конфигурирате тази функция, е необходимо ниво на достъп на администратор.

1. От главното меню изберете **System Settings** (Настройки на системата).
2. Изберете раздела Run Settings (Настройки на изпълняване).
3. Изберете полето за отметка **Start run after pre-run check. Do not prompt for confirmation.** (Започнете изпълняване след като направите проверката преди изпълняване. Не преминавайте към потвърждаване.).
Ако тази настройка е дезактивирана, стартирайте ръчно изпълняването след проверката преди изпълняване.

Включване на проактивната поддръжка на Illumina

1. От главното меню изберете **System Settings** (Настройки на системата).
 2. Изберете раздела Proactive (Проактивно).
- Изберете **Send Instrument Health** (Изпращане на информация за изправността на инструмента), за да активирате услугата за проактивен мониторинг на Illumina. Името на настройката в интерфейса на софтуера може да се различава от името в този наръчник в зависимост от версията на MOS, която се използва.
Когато тази настройка е включена, данните за работата на инструмента се изпращат на Illumina. Тези данни помагат на Illumina да отстранява неизправностите по-лесно и да открива потенциални проблеми, като така се дава възможност за проактивна поддръжка и максимално удължаване на работата на инструмента. За повече информация за ползите от тази услуга вижте *Техническа бележка на Illumina Proactive (документ № 1000000052503)*.
Тази услуга:
 - не изпраща данни за секвенирането.
 - изисква инструментът да е свързан към мрежа с достъп до интернет.
 - е изключена по подразбиране. За да се включите в тази услуга, активирайте настройката **Send Instrument Health** (Изпращане на информация за изправността на инструмента).

- Изберете **Send instrument health information to Illumina to aid technical support** (Изпращане на информация за изправността на инструмента, до Illumina, за да помогнете за техническата поддръжка), за да активирате услугата за проактивен мониторинг на Illumina. Името на настройката в интерфейса на софтуера може да се различава от името в този наръчник в зависимост от версията на MOS, която се използва.

Когато тази настройка е включена, данните за работата на инструмента се изпращат на Illumina. Тези данни помагат на Illumina да отстранява неизправностите по-лесно и да открива потенциални проблеми, като така се дава възможност за проактивна поддръжка и максимално удължаване на работата на инструмента. За повече информация за ползите от тази услуга вижте *Техническа бележка на Illumina Proactive (документ № 1000000052503)*.

Тази услуга:

- не изпраща данни за секвенирането.
- изисква инструментът да е свързан към мрежа с достъп до интернет.
- е изключена по подразбиране. За да се включите в тази услуга, активирайте настройката **Send instrument health information to Illumina to aid technical support** (Изпращане на информация за изправността на инструмента до Illumina, за да помогнете за техническата поддръжка).

3. От падащия списък изберете хостинг региона, към който инструментът трябва да се свърже.

Задаване на предпочитания за имейл

MiSeqDx може да бъде конфигуриран да изпраща известие по имейл, когато RTA анализът е завършен, когато вторичният анализ на инструмента е завършен или ако възникне критична грешка в софтуера MiSeqDx. Обикновено тази конфигурация се извършва по време на инсталацията на MiSeqDx. Local Run Manager За да използвате тази функция, е необходимо ниво на достъп на администратор.

1. От главното меню изберете **System Settings** (Настройки на системата).
2. Изберете раздела **Email Notifications** (Известия по имейл).
3. Въведете следната информация:
 - **Local SMTP email server address** (Адрес на локален SMTP имейл сървър) – използвайте екранната клавиатура, за да въведете адреса на локалния SMTP имейл сървър. Ако е необходимо, свържете се с администратора на базата за тази информация.
 - **Sender address** (Адрес на подателя) – използвайте екранната клавиатура, за да въведете имейл адреса на подателя. Този адрес може да бъде вашият имейл адрес или различен адрес, посочен за изпращане на известия по имейл. Имейл адресът на подателя трябва да има същото име на домейн като адреса на имейл сървъра.

- **Recipient addresses** (Адреси на получатели) – използвайте екранната клавиатура, за да въведете имейл адресите на всеки получател, който да получава известия. Отделете всеки имейл адрес със запетая. Изберете **Test** (Тест), за да изпратите тестов имейл към получателите на известия.
- **Notify via email when** (Уведомяване по имейл при) – поставете отметка в квадратчето за всяко от събитията за изпълняване, които водят до известие.

ЗАБЕЛЕЖКА На изпълняване на диагностика се позволява по едно неуспешно разчитане на RFID. Ако RFID на два консуматива не може да бъде разчетен, софтуерът не може да премине към следващата стъпка за конфигуриране на изпълняването. Ако настъпи грешка, свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina. Ако изберете опцията **Notify via email when** (Уведомяване по имейл, когато) и отметнете полето **On-Instrument analysis is complete** (Анализът на инструмента е завършен), известията по имейл се изпращат само ако изпълнението не е конфигурирано да изпраща данни за секвениране до BaseSpace Sequence Hub.

Посочване на местоположение на папката за изходни файлове по подразбиране

Изходната папка на MiSeqDx задава местоположението по подразбиране за изходните файлове за анализ. Папките могат да бъдат в локална мрежа или на компютъра на инструмента. Променете изходната папка по подразбиране на мрежово местоположение за споделяне или дългосрочно съхранение.

За да конфигурирате тази функция, е необходимо ниво на достъп на администраторски потребител на Local Run Manager.

1. От главното меню изберете **System Settings** (Настройки на системата).
2. Изберете раздела Run Settings (Настройки на изпълняване).
3. Въведете пътеката до местоположението на папката в полето Output Folder (Изходна папка). Уверете се, че сте въвели пълен UNC път, например `\\YourServer\Path\OutputFolder`.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Ако използвате картографиран път като `Z:\OutputFolder`, анализът на изпълняването на секвениране не се извършва.

Необходими консумативи

Консумативи за секвениране

Консумативите за секвениране, необходими за стартирането на MiSeqDx, се предоставят отделно като част от комплект за *in vitro* диагностика.

Консумативи, които се набавят от потребителя

Уверете се, че следните консумативи, които се набавят от потребителя, са налични преди започване на изпълняване.

Консуматив	Цел
Кърпички със спирт, 70% изопропилов или Етанол, 70%	Почистване на стъклото и площадката на поточната клетка
Лабораторни кърпи, ниска степен на отделяне на мъх	Почистване на платформата на поточната клетка
Хартия за лещи, 4 x 6 in	Почистване на поточната клетка
Епруветки MiSeq	Измиване на шаблонната линия (незадължително)
NaOCl, 5%	Измиване на шаблонната линия (незадължително)
Tween 20	Измиване на инструмента
Пинсети, пластмаса с квадратна форма (незадължително)	Премахване на поточната клетка от контейнера за транспортиране на поточна клетка
Вода, лабораторен клас	Измиване на инструмента

Насоки за лабораторен клас вода

Винаги използвайте лабораторен клас вода или дейонизирана вода за извършване на процедури по инструмента. Никога не използвайте чешмяна вода.

Използвайте само следните класове вода или еквиваленти:

- Дейонизирана вода
- Illumina PW1
- 18 мегаома (MΩ) вода
- Milli-Q вода
- Super-Q вода
- Клас вода за молекулярна биология

Съхранение и обработка

Елемент	Спецификация
Температура	Транспорт и съхранение: -10 °C до 40 °C (14 °F до 104 °F) Условия на работа: 19 °C до 25 °C (66 °F до 77 °F)
Влага	Транспорт и съхранение: Некондензираща влажност Условия на работа: 30 – 75% относителна влажност (некондензираща)

Секвениране

Въведение

За да извършите изпълняване на MiSeqDx, следвайте стъпките за настройка, описани в тази глава. След началото на изпълняването не се изисква друга намеса на потребителя.

След завършване на изпълняване на секвениране извършете измиване на инструмента.

Продължителност на изпълняването

Продължителността на изпълняването се основава на броя на извършените цикли. В зависимост от версията на реагентите на MiSeqDx, MiSeqDx може да изпълнява секвениране на сдвоени краища до 2 x 301 цикъла на секвениране.

Брой цикли в едно разчитане

Броят на циклите, извършени в едно разчитане, е с един цикъл повече от броя на анализираните цикли. Единият допълнителен цикъл е необходим за изчисляване на фазиране и префазиране.

Например изпълняване от 150 цикъла със сдвоени краища извършва две разчитания от 151 цикъла (2 x 151) за общо 302 цикъла, плюс всички цикли за индексни разчитания. В края на сдвояването се анализират 2 x 150 цикъла.

Генериране на клъстери

По време на генерирането на клъстери единичните молекули ДНК се свързват с повърхността на поточната клетка и се амплифицират мостово, за да се сформират клъстери.

Секвениране

След генерирането на клъстери те се изобразяват с помощта на LED и комбинации от филтри, специфични за всеки от четирите флуоресцентно-маркирани дидезоксинуклеотиди. След като изобразяването на една плочка от поточната клетка е завършено, поточната клетка се премества на място, за да се експонира следващата плочка. Процесът се повтаря, докато се изобразят всички плочки. След анализа на изображенията софтуерът изпълнява първичен анализ, който включва обозначаване на бази, филтриране и изчисляване на резултат за качество.

Анализ

Когато изпълняването приключи, софтуерът за анализ на Local Run Manager се стартира автоматично, за да извърши вторичен анализ.

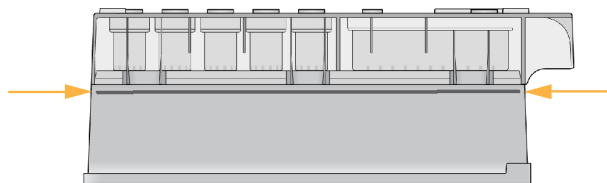
Вторичният анализ може да се мониторира с помощта на интернет връзка от друг компютър, при условие че компютърът е в същата мрежова връзка като MiSeqDx. Вижте *Local Run Manager v4 Software Guide for MiSeqDx (документ № 200046657)*.

Приготвяне на касетата с реагенти

Следващите инструкции описват как се размразява касетата с реагент на водна баня при стайна температура.

1. Размразете касетата с реагенти във водна баня, съдържаща достатъчно количество дейонизирана вода със стайна температура, за да потопите основата на касетата с реагенти до линията за ниво на водата, отпечатана на касетата с реагенти. Не позволявайте на водата да надвишава линията за максимално ниво на водата.
2. Извадете касетата с реагенти от мястото на съхранение при температура от $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
3. Поставете касетата с реагенти във водна баня, съдържаща достатъчно количество дейонизирана вода със стайна температура, за да потопите основата на касетата с реагенти. Не позволявайте на водата да надвишава линията за максимално ниво на водата, отпечатана на касетата с реагенти.

Фигура 3 Линия за максимално ниво на водата



4. Оставете касетата с реагенти да се размрази на водната баня на стайна температура, докато се размрази напълно.
Времето за размразяване варира от приблизително 60 до 90 минути в зависимост от вида на касетата с реагент. Вижте листовката в опаковката на анализа за повече информация.
5. Извадете касетата от водната баня и внимателно я почукайте върху масата, за да изхвърлите водата от основата на касетата. Изсушете основата на касетата. Уверете се, че по горната част на касетата с реагенти не е пръснала вода.

Проверяване на касетата с реагенти

1. Обърнете касетата с реагенти десет пъти, за да смесите размразените реактиви и след това проверете дали всички позиции са размразени.
2. Проверете реагентите в позиции 1, 2 и 4, за да се уверите, че те са напълно смесени и без утайки.

ЗАБЕЛЕЖКА От решаващо значение е реагентите в касетата да се размразят добре и да се смесят, за да се осигури правилно секвениране.

3. Внимателно почукайте касетата върху масата, за да намалите въздушните мехурчета в реагентите.

ЗАБЕЛЕЖКА Сиперните тръбички на MiSeqDx отиват на дъното на всеки резервоар, за да аспирират реагентите, така че е важно резервоарите да нямат въздушни мехурчета.

4. Поставете касетата с реагенти върху лед или оставете настрана при 2 °C до 8 °C (до шест часа), докато сте готови за конфигуриране на изпълняването. За най-добри резултати продължете директно към зареждане на пробата и настройка на изпълняването.

Зареждане на библиотеки с проби на касетата

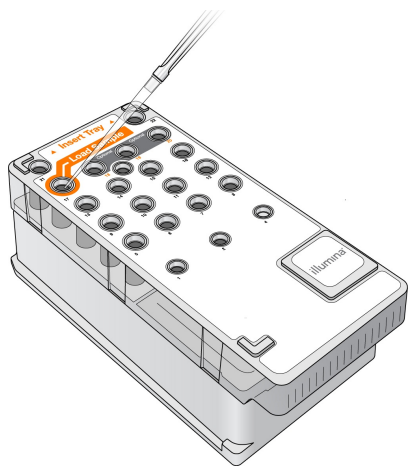
Когато касетата с реагенти е напълно размразена и готова за употреба, може да заредите проби в касетата.

1. Използвайте отделен, чист и празен накрайник за пипета от 1 ml за пробиване на фолиевото запечатване на резервоара на касетата с реагенти с етикет **Load Samples** (Зареждане на проби).

ЗАБЕЛЕЖКА Не пробивайте никаква друга позиция на реагента. Другите позиции на реагента се пробиват автоматично по време на изпълняване.

2. Пипетирайте 600 µl от подготвените библиотеки с проби с разреден ампликон (DAL) в резервоара **Load Samples** (Зареждане на проби). Избягвайте докосването на фолиевото запечатване.
3. Проверете за въздушни мехурчета в резервоара след зареждане на пробата. Ако има въздушни мехурчета, леко почукайте касетата върху масата, за да освободите мехурчетата.

Фигура 4 Зареждане на библиотеки



4. Продължете директно към стъпките за конфигуриране на изпълняването, като използвате интерфейса на MiSeq Operating Software (MOS).

Влезте и следвайте подканите за секвениране

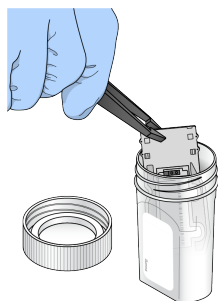
1. От екрана Home (Начало) изберете **Sequence** (Секвениране).
2. Ако се отвори екранът за влизане, въведете съответните идентификационни данни на потребителя и след това изберете **Next** (Напред). Изберете **Sequence** (Секвениране) отново след влизане.
3. Изберете изпълняване от списъка.
4. [Незадължително] Изберете **Preview Samples** (Преглед на пробите), за да видите списък с пробите в изпълняването.
5. Изберете **Next** (Напред).
6. Следвайте указанията, за да заредите поточната клетка и реагентите и да настроите изпълняването (описано в следващите раздели).

Почистете поточната клетка

Поточната клетка се потапя в буфер за съхранение в контейнер за поточна клетка.

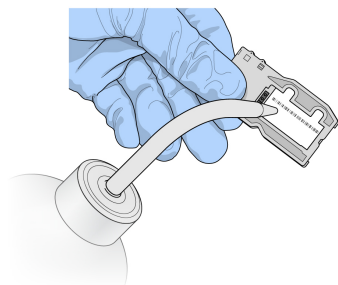
1. Сложете нов чифт ръкавици без талк.
2. Използвайки пластмасов форцепс, хванете поточната клетка за основата на пластмасовата касета и я извадете от контейнера за поточна клетка.

Фигура 5 Извадете поточната клетка



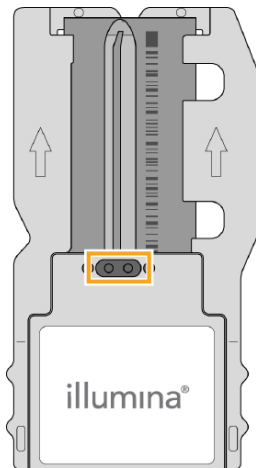
3. Изплакнете леко поточната клетка с вода от лабораторен клас, като се уверите, че както стъклената, така и пластмасовата касета са добре изплакнати от излишните соли. Излишъкът от соли може да повлияе на поставянето на поточната клетка в инструмента. Ако солите изсъхнат в зоната за изобразяване, то също може да бъде засегнато.

Фигура 6 Изплакнете поточната клетка



4. Като внимавате около уплътнението на черния порт за поточната клетка (очертано в следващата илюстрация), подсушете добре поточната клетка и касетата, като използвате кърпа за почистване на лещи без влакна. Внимателно подсушете в областта на уплътнението и съседното стъкло.

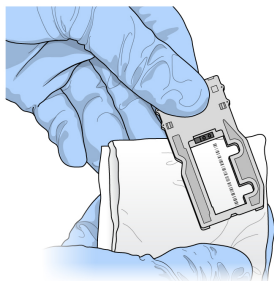
Фигура 7 Портове и уплътнения на поточна клетка



5. Почистете стъклената повърхност на поточната клетка с кърпичка със спирт. Уверете се, че по стъклото няма ивици, пръстови отпечатьци и влакна от тъкани или кърпи.

ЗАБЕЛЕЖКА Не използвайте кърпичката със спирт върху уплътнението на порта за поточна клетка.

Фигура 8 Подсушете поточната клетка

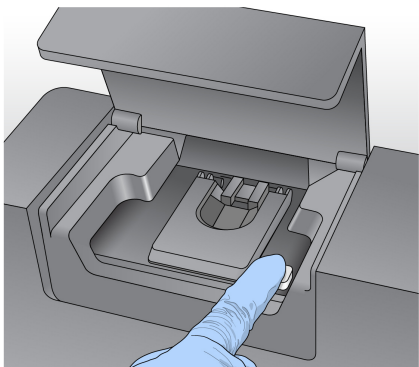


6. Подсушете излишния алкохол с кърпа за почистване на лещи без влакна.
7. Уверете се, че портовете на поточната клетка са без запушвания и че уплътнението е добре разположено около портовете на поточната клетка.
Ако уплътнението изглежда изместено, внимателно го притиснете обратно на място, докато се фиксира здраво около портовете на поточната клетка.

Зареждане на поточната клетка

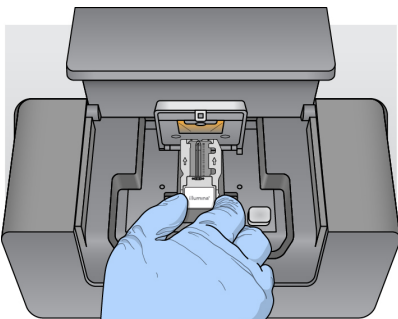
1. Вдигнете вратата на отделението на поточни клетки и след това натиснете бутона за освобождаване отдясно на ключалката на поточната клетка. Ключалката на поточната клетка се отваря.

Фигура 9 Отворете ключалката за поточни клетки



2. Уверете се, че стойката на поточната клетка не съдържа власинки. Ако има власинки или други замърсявания, почистете стойката на поточната клетка с кърпичка със спирт или кърпа без власинки, навлажнена с етанол или изопропанол. Внимателно избършете повърхността на стойката на поточната клетка, докато стане чиста и суха.
3. Като задържите поточната клетка за ръбовете на касетата за поточни клетки, поставете стойката за поточни клетки.

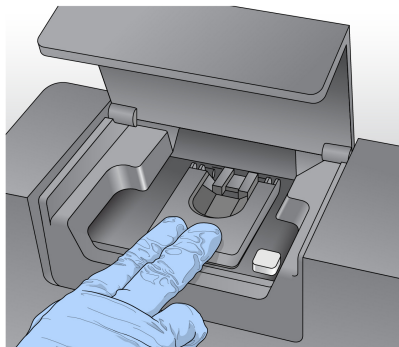
Фигура 10 Поставете поточната клетка на стойката



4. Внимателно натиснете ключалката за поточни клетки, за да я затворите над поточната клетка.

След като ключалката за поточни клетки се затвори, щифтовете за подравняване позиционират поточната клетка. Чува се щракване, което посочва, че ключалката за поточната клетка е заключена.

Фигура 11 Затворете ключалката за поточни клетки



5. Ако софтуерът не идентифицира RFID на поточната клетка, вижте [Разрешаване на неуспешно разчитане на RFID на стр. 43](#).

ЗАБЕЛЕЖКА Ако RFID не може да се разчете, идентификационната информация може да се въведе ръчно. Софтуерът обаче позволява само един от трите компонента с RFID етикети (поточна клетка, касета с реагенти, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) да е неуспешен при *in vitro* диагностично изпълняване. За повече информация вижте [Разрешаване на неуспешно разчитане на RFID на стр. 43](#).

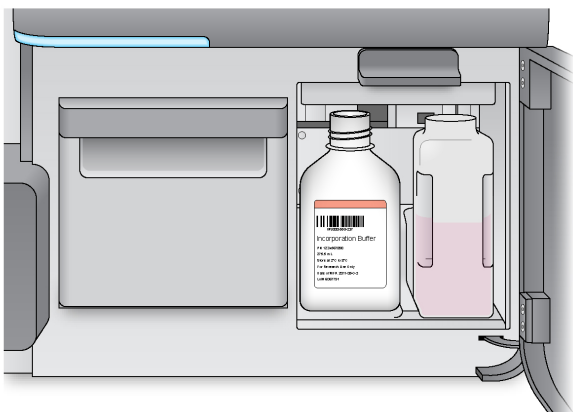
6. Затворете вратичката на отделението за поточни клетки.
7. Изберете **Next** (Напред).

Зареждане на реагенти

Заредете MiSeqDx SBS Solution (PR2) и проверете бутилката за отпадъци

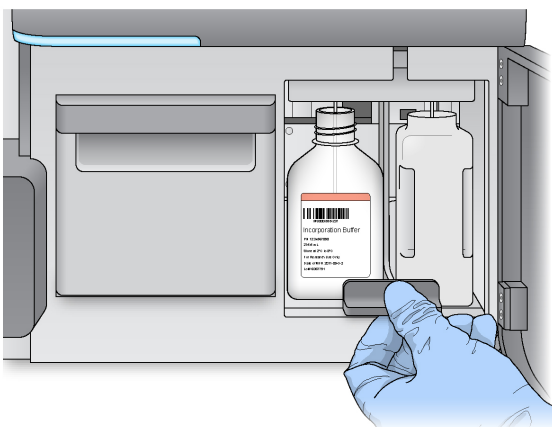
1. Извадете бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) от място за съхранение с температура от 2 °C до 8 °C. Обърнете, за да смесите, и отстранете капака.
2. Отворете вратичката на отделението за реагенти.
3. Повдигнете дръжката на сипера, докато се застопори.
4. Премахнете бутилката за измиване и заредете бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2).

Фигура 12 Заредете бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2).



5. Изпразнете съдържанието на бутилката за отпадъци в подходящия контейнер.
6. Снизете бавно дръжката на сипера. Уверете се, че сиперите слизат в MiSeqDx SBS Solution (PR2) и в бутилките за отпадъци.

Фигура 13 Снизете дръжката на сипера



7. Ако софтуерът не идентифицира RFID на бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2), вижте [Разрешаване на неуспешно разчитане на RFID на стр. 43](#).

ЗАБЕЛЕЖКА Ако RFID не може да се разчете, идентификационната информация може да се въведе ръчно. Софтуерът обаче позволява само един от трите компонента с RFID етикети (поточна клетка, касета с реагенти, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) да е неуспешен при *in vitro* диагностично изпълняване. За повече информация вижте [Разрешаване на неуспешно разчитане на RFID на стр. 43](#).

8. Изберете **Next** (Напред).

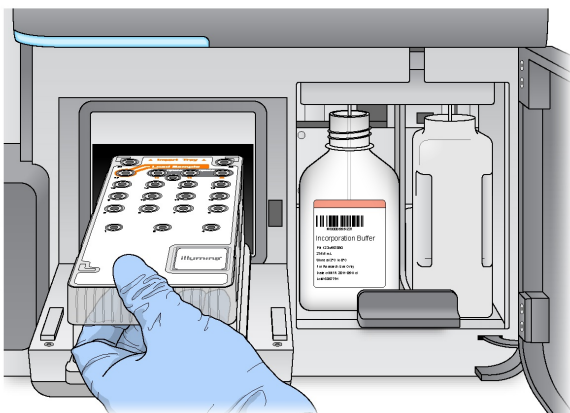
Зареждане на касетата с реагенти

1. Отворете вратичката на охладителя за реагенти.

ЗАБЕЛЕЖКА Не оставяйте вратата на охладителя за реагенти отворена за продължителни периоди от време.

2. Задръжте касетата за реагент в края с етикета Illumina и плъзнете касетата за реагенти в охладителя за реагенти, докато касетата спре.

Фигура 14 Зареждане на касета с реагенти



3. Затворете вратичката на охладителя за реагенти.
4. Ако софтуерът не идентифицира RFID на касетата с реагенти, вижте [Разрешаване на неуспешно разчитане на RFID на стр. 43](#).

ЗАБЕЛЕЖКА Ако RFID не може да се разчете, идентификационната информация може да се въведе ръчно. Софтуерът обаче позволява само един от трите компонента с RFID етикети (поточна клетка, касета с реагенти, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) да е неуспешен при *in vitro* диагностично изпълняване. За повече информация вижте [Разрешаване на неуспешно разчитане на RFID на стр. 43](#).

5. За да започнете изпълняването, изберете от следните опции.
 - Ако системата не е конфигурирана да се стартира автоматично след успешна проверка, изберете **Start Run** (Стартиране на изпълняване).
 - Ако системата е конфигурирана да се стартира автоматично след успешна проверка, изпълняването на секвенирането започва автоматично. Не се налага да присъствате. Ако обаче възникнат грешки по време на проверката, изпълняването не започва автоматично.

ЗАБЕЛЕЖКА Ако температурата на охладителя за реагенти е извън диапазона, това може да попречи на стартирането на секвенирането. Вижте [Разрешаване на температурни грешки с охладител на реагент на стр. 47](#).

Важна забележка преди да започнете изпълняването



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

MiSeqDx е чувствителен към вибрации. Докосването на инструмента след стартиране на изпълняване може да повлияе неблагоприятно на резултатите от секвенирането.

След зареждане на касетата с реагент и затваряне на вратата на отделението за реагенти не отваряйте отделението на поточната клетка или вратите на отделението за реагенти. Не докосвайте монитора на инструмента, освен за да поставите изпълняването на пауза. За повече информация вижте [Спиране на изпълняване на пауза на стр. 41](#).



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Уверете се, че сте затворили всички файлове на MiSeqDx, преди да започнете изпълняване, и не отваряйте файлове по време на изпълняване.

Мониториране на изпълняването

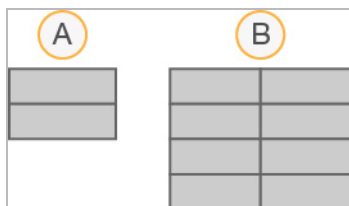
По време на изпълняване мониторирайте детайл за изпълняване чрез екрана Sequencing (Секвениране) на инструмента. Екранът Sequencing (Секвениране) е само за преглед.

Можете също да използвате Local Run Manager, за да мониторираете изпълняване дистанционно, ако инструментът е свързан към същата мрежа.

Local Run Manager показва напредъка на изпълняването и информация за секвенирането (общ брой клъстери, % клъстери PF, разчитане 1 и разчитане 2 % \geq Q30 и последен цикъл за оценка). За повече информация вижте [Софтуер Local Run Manager на стр. 6](#).

1. Мониторирайте напредъка на изпълняването, интензитетите и резултатите за качество, които се появяват на екрана Sequencing (Секвениране).
 - **Run Progress** (Напредък на изпълняването) – показва напредъка на изпълняването в лентата за състояние и изброява броя на завършените цикли.
 - **Intensity** (Интензитет) – показва плътността на интензитета на клъстера на 90^и перцентил за всяка плочка.
- Графиката в областта Intensity (Интензитет) представлява броят на изобразените плочки.
- Ако поточната клетка е изобразена само на горната повърхност, се появява графика с една колона.

- Ако поточната клетка е изобразена на горната и долната повърхност, се появява графика с две колони.



- A. Показва две плочки, само по горната повърхност
 - B. Показва четири плочки, по горната и долната повърхност
- **Q-Score All Cycles** (Резултат за качество от всички цикли) – показва средния процент бази, по-големи от Q30, което е измерване на резултат за качество (Q-score). Резултатът за качество представлява предвиждане на вероятността за неправилно обозначаване на бази. Резултатите за качество се изчисляват след цикъл 25.

Резултат за качество	Възможност за неправилно обозначаване на бази
Q40	1 на 10 000
Q30	1 на 1000
Q20	1 на 100
Q10	1 на 10

- **Cluster Density (K/mm²)** (Плътност на клъстерите (K/mm²)) – показва броя на клъстери за изпълняването на квадратен милиметър. Оптимално очаквайте плътност на клъстерите от 800K/mm².

ЗАБЕЛЕЖКА Ограничението на обозначаването на бази е съотношението на интензитета на най-големия сигнал, разделено на сумата от двата най-големи сигнала. Ако повече от едно обозначаване на бази има стойност на ограничение от по-малко от 0,6 в първите 25 цикъла, разчитанията не преминават филтъра за качество.

- **Estimated Yield (Mb)** (Изчислена производителност (Mb)) – показва предвидения брой на базите, предвидени за изпълняването, измерен в мегабази. Тези данни се появяват само след цикъл 25.
2. Когато изпълняването завърши, се показва бутонът Next (Напред). Прегледайте резултатите на екрана Sequencing (Секвениране), преди да продължите.

ЗАБЕЛЕЖКА Екранът Sequencing (Секвениране) остава видим до избиране на Next (Напред). След като изберете Next (Напред), не можете да се върнете на екрана Sequencing (Секвениране).

- Изберете **Next** (Напред), за да излезете от екрана Sequencing (Секвениране) и да продължите към измиването след изпълняване.

Генериране на шаблон

Real-Time Analysis (RTA) използва първите четири цикъла от изпълняването на секвениране за генериране на шаблон. Генерирането на шаблона е процес, при който позициите на клъстера по цялата повърхност на поточната клетка се определят в съответствие с координатната позиция X и Y.

След като се генерира шаблонът на позициите на клъстера, изображенията, създадени през всеки следващ цикъл на изображения, се подравняват спрямо шаблона. Индивидуалните клъстерни интензитети във всичките четири нуклеотидни цветни канала се извличат и обозначаванията на бази се произвеждат от нормализирания клъстерен интензитет.

Показатели на изпълняване

Показателите на изпълняване се появяват на екрана Sequencing (Секвениране) в различни моменти от изпълняването. По време на стъпките за генериране на клъстери не се появяват показатели.

След започване на секвенирането се появяват следните показатели при посочените цикли:

Цикъл	Показатели
Цикъл 1 – 4	Интензитет
Цикъл 4 – 25	Интензитет и плътност на клъстера
Цикъл 25 до завършване на изпълняването	Интензитет, плътност на клъстера, % PF, добив и резултати за качество

Извършване на измиване след изпълняване

Измиването след изпълняване е стандартното измиване на инструмента, което се извършва между изпълняванията на секвениране. След завършване на изпълняване на секвениране винаги извършвайте измиване на инструмента. Следвайте указанията на софтуера, за да заредите компонентите за измиване и да извършите измиването. Измиването след изпълняване отнема приблизително 20 минути.

Започнете измиването директно след изпълняването. Изисква се измиване на инструмента, преди да можете да настроите последващо изпълняване. За да извършите измиване след изпълняване във време, различно от непосредствено след изпълняване, използвайте командата на екрана Perform Wash (Извършване на измиване), за да започнете измиването.

Редовните измивания на инструмента осигуряват непрекъсната работа по следните начини:

- Изплаква всички останали реагенти от линиите за флуидика и сиперите
- Предотвратява натрупването и кристализацията на сол в линиите за флуидика и сиперите
- Предотвратява кръстосано замърсяване от предишното изпълняване

Имате възможност да извършите измиване след изпълняване, което включва измиване с шаблонна линия с разтвор на натриев хипохлорит (NaOCl). Измиването отнема приблизително 30 минути. Вижте [Процедура с измиване с шаблонна линия на стр. 29](#).

ЗАБЕЛЕЖКА Оставете използваната поточна клетка в инструмента. На инструмента трябва да се зареди поточна клетка, за да се извърши измиване на инструмента.

Консумативи, които се набавят от потребителя

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, каталожен № P7949)
- Лабораторен клас вода
- NaOCl (използвайте с измиване след изпълняване, което включва измиване с шаблонна линия)
- Епруветка MiSeq (част № MS-102-9999) (за измивания след изпълняване, които включват измиване с шаблонна линия)

Процедура

1. Пригответе нов разтвор за измиване с Tween 20 и лабораторен клас вода по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 5 ml 100% Tween 20 към 45 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постигат 10% Tween 20.
 - b. Добавете 25 ml 10% Tween 20 към 475 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постига 0,5% Tween 20 разтвор за измиване.
 - c. Обърнете неколккратно, за да смесите съдържанието.
2. Подгответе компонентите за измиване с пресен 0,5% Tween 20 разтвор за измиване по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 6 ml разтвор за измиване във всеки резервоар на таблата за измиване.
 - b. Добавете 350 ml разтвор за измиване в бутилката за измиване с вместимост 500 ml.

- От екрана за измиване след изпълняване изберете **Start Wash** (Стартиране на измиване). Софтуерът автоматично вдига сиперите в охладителя за реагенти. Изчакайте няколко секунди, за да се уверите, че сиперите са напълно повдигнати, преди да продължите. *Не избирайте **Perform optional template line wash** (Изпълнение на опционално измиване на шаблонните линии) на екрана за измиване след изпълняване. Измиването с шаблонна линия изисква различна процедура. Вижте [Процедура с измиване с шаблонна линия на стр. 29](#).*
- Отворете вратичката на отделението за реагенти и вратичката на охладителя за реагенти, след което издърпайте използваната касета за реагенти от охладителя.
- Вкарайте таблата за измиване в охладителя за реагенти до упор, след което затворете вратичката на охладителя за реагенти.
- Повдигнете дръжката на сипера пред бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) и бутилката за отпадъци, докато се фиксира на мястото си.
- Премахнете бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) и я сменете с бутилката за измиване.

ЗАБЕЛЕЖКА Изхвърляйте бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) след всеки цикъл. Не използвайте повторно останалия MiSeqDx SBS Solution (PR2).

- Премахнете бутилката за отпадъци и изхвърлете съдържанието по подходящ начин. Върнете бутилката за отпадъци в отделението за реагенти.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Този набор от реактиви съдържа потенциално опасни химикали. Може да възникнат наранявания в резултат на вдишване, поглъщане, контакт с кожата и контакт с очите. Вентилацията трябва да е подходяща за работа с опасни материали в реактивите. Носете предпазно оборудване, включително защита за очи, ръкавици и лабораторна престилка, подходящи за риска от експозиция. Третирайте използваните реактиви като химичен отпадък и ги изхвърляйте съгласно приложимите регионални, национални и местни закони и нормативни разпоредби. За допълнителна информация относно околната среда, здравето и безопасността вижте SDS на адрес support.illumina.com/sds.html.

- Бавно свалете дръжката на сипера, като се уверите, че сиперите слизат в бутилката за измиване и бутилката за отпадъци.
- Затворете вратичката на отделението за реагенти.
- Изберете **Next** (Напред). Измиването след изпълняване се стартира.

Когато измиването приключи, оставете в инструмента използваната поточна клетка, таблата за измиване и бутилката за измиване, съдържаща остатъка от разтвора за измиване.

ЗАБЕЛЕЖКА Сиперите остават в долна позиция, което е нормално. Оставете неизползания разтвор за измиване в таблата за измиване и измийте бутилката, за да предотвратите изсъхването на сиперите и проникването на въздух в системата.

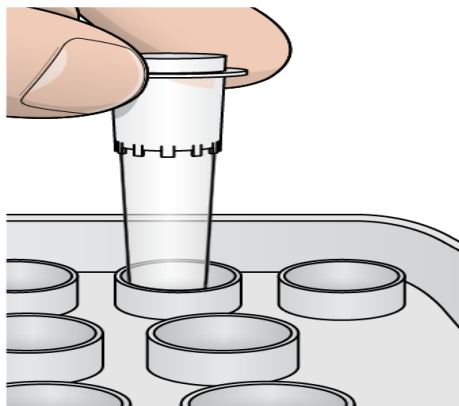
Процедура с измиване с шаблонна линия

1. Пригответе нов разтвор за измиване с Tween 20 и лабораторен клас вода по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 5 ml 100% Tween 20 към 45 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постигат 10% Tween 20.
 - b. Добавете 25 ml 10% Tween 20 към 475 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постига 0,5% Tween 20 разтвор за измиване.
 - c. Обърнете пет пъти за смесване.
2. Пригответе нов разтвор за измиване на базата на NaOCl и лабораторен клас вода по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 36 µl 5% NaOCl към 864 µl лабораторен клас вода. С тези обеми се постига разреждане 1:25 на NaOCl.
 - b. Добавете 50 µl от разреден 1:25 NaOCl към 950 µl лабораторен клас вода в епруетка MiSeq (част № MS-102-9999).

ЗАБЕЛЕЖКА Важно е да се използва правилната концентрация на NaOCl. Задължително проверете процентното съдържание на NaOCl на етикета на продукта. Ако концентрацията е прекалено висока, това може да доведе до неуспешно генериране на клъстери в последващите изпълнявания. Ако не разполагате с 5% NaOCl, направете 1 ml разтвор на 0,01% NaOCl в лабораторен клас вода. Не използвайте NaOCl при измиване за поддръжка или измиване в режим на готовност.

3. Подгответе компонентите за измиване с пресен разтвор за измиване по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 6 ml разтвор за измиване във всеки резервоар на таблата за измиване, с изключение на резервоар 17.
 - b. Добавете 350 ml разтвор за измиване в бутилката за измиване с вместимост 500 ml.
4. Поставете епруетката MiSeq, съдържаща 0,01% NaOCl измийте разтвора в резервоар 17 на таблата за измиване, докато гърлото на епруетката се изравни с таблата.

Фигура 15 Епруветка MiSeq в позиция 17 на таблата за измиване



ЗАБЕЛЕЖКА Задължително поставяйте епруветката MiSeq с NaOCl само в позиция 17 на таблата. При поставяне на епруветката в друга позиция е възможно генерирането на клъстери в последващите изпълнения да е неуспешно и може да повреди системата на флуидиката на инструмента MiSeqDx.

5. Когато изпълняването приключи, изберете **Start Wash** (Стартиране на измиване). Софтуерът автоматично вдига сиперите в охладителя за реагенти.
6. Изберете **Perform optional template line wash** (Изпълнение на опционално измиване на шаблонните линии) на екрана за измиване след изпълняване. Когато използвате работния поток VeriSeq PGS, опцията **Perform option at template line wash** (Опция на изпълняване при измиване с шаблонна линия) е избрана предварително за Вас. MCS проследява вида на измиването след изпълняването, извършвано след всяко изпълняване. Ако **не е избрана опция на изпълняване при измиване с шаблонна линия**, на екрана „Преглед на изпълняване“ ще се появи съобщение, което Ви напомня следващия път, когато започнете да секвенирате изпълняването.
7. Отворете вратичката на отделението за реагенти и вратичката на охладителя за реагенти, след което издърпайте използваната касета за реагенти от охладителя.
8. Вкарайте таблата за измиване в охладителя за реагенти до упор, след което затворете вратичката на охладителя за реагенти.
9. Повдигнете дръжката на сипера пред бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) и бутилката за отпадъци, докато се фиксира на мястото си.
10. Премахнете бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) и я сменете с бутилката за измиване.

ЗАБЕЛЕЖКА Изхвърляйте бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) след всеки цикъл. Не използвайте повторно останалия MiSeqDx SBS Solution (PR2).

11. Премахнете бутилката за отпадъци и изхвърлете съдържанието по подходящ начин. Върнете бутилката за отпадъци в отделението за реагенти.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Този набор от реактиви съдържа потенциално опасни химикали. Може да възникнат наранявания в резултат на вдишване, поглъщане, контакт с кожата и контакт с очите. Носете предпазно оборудване, включително защита за очи, ръкавици и лабораторна престилка, подходящи за риска от експозиция. Третирайте използваните реактиви като химичен отпадък и ги изхвърляйте съгласно приложимите регионални, национални и местни закони и нормативни разпоредби. За информация относно околната среда, здравето и безопасността вижте информационния лист за безопасност (SDS) на адрес support.illumina.com/sds.html.

12. Бавно свалете дръжката на сипера, като се уверите, че сиперите слизат в бутилката за измиване и бутилката за отпадъци.
13. Затворете вратичката на отделението за реагенти.
14. Изберете **Next** (Напред). Измиването след изпълняване се стартира. Когато измиването приключи, оставете в инструмента използваната поточна клетка, таблата за измиване и бутилката за измиване, съдържаща остатъка от разтвора за измиване.

ЗАБЕЛЕЖКА

Сиперите остават в долна позиция, което е нормално. Оставете неизползвания разтвор за измиване в таблата за измиване и измийте бутилката, за да предотвратите изсъхването на сиперите и проникването на въздух в системата.

Поддръжка

Честота на поддръжка

Извършвайте дейностите по поддръжка, описани в тази глава, на интервалите, показани в следващите таблици.

Таблица 1 Поддръжка по време на нормална работа

Дейност	Ежемесечно	При необходимост
Измиване за поддръжка	X	
Измиване в режим на готовност		За подготовка за статичен режим (≥ 7 дни без използване)
Изключване на инструмента		X

Таблица 2 Поддръжка по време на статичен режим (≥7 дни без използване)

Дейност	Ежемесечно	При необходимост
Измиване в режим на готовност	X	
Изключване на инструмента		X

Профилактика

Illumina препоръчва една профилактична поддръжка всяка календарна година. Ако нямате сключен договор за сервизно обслужване, се свържете със своя териториален мениджър на клиенти или отдела за техническа поддръжка на Illumina, за да уредите платена услуга за профилактика.

Извършване на измиване за поддръжка

Извършвайте измиване за поддръжка на всеки 30 дни, за да осигурите оптимална работа. Измиването за поддръжка отнема приблизително 90 минути, за да завърши. Измиването включва поредица от три етапа на измиване, които старателно промиват системата с помощта на разтвор на лабораторен клас вода за измиване, смесен с Tween 20.

Можете да конфигурирате инструмента да извършва измиване за поддръжка между изпълняванията, а не измиване след изпълняване. Вижте [Задаване на опцията за измиване след изпълняване на стр. 9](#).

Консумативи, които се набавят от потребителя

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, каталожен № P7949)
- Лабораторен клас вода



ВНИМАНИЕ

Винаги затваряйте вратата на охладителя за реагенти след зареждане на таблата за измиване и преди започване на измиване. Тази стъпка предотвратява потенциални наранявания, които могат да настъпят, ако ръцете ви препречат сиперите, когато те се спуснат.

Процедура

1. Уверете се, че използвана поточна клетка е заредена на инструмента.
2. От екрана Home (Начало) изберете **Perform Wash** (Извършване на измиване).
3. От екрана Perform Wash (Извършване на измиване) изберете **Maintenance Wash** (Измиване за поддръжка). Софтуерът автоматично вдига сиперите в охладителя за реагенти.

ЗАБЕЛЕЖКА Винаги използвайте пресен разтвор за измиване за всяка стъпка на измиване. Повторното използване на разтвор за миене от предишното измиване може да върне отпадъците към линиите за флуидика.

Извършете първото измиване

1. Пригответе нов разтвор за измиване с Tween 20 и лабораторен клас вода по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 5 ml 100% Tween 20 към 45 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постигат 10% Tween 20.
 - b. Добавете 25 ml 10% Tween 20 към 475 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постига 0,5% Tween 20 разтвор за измиване.
 - c. Обърнете неколккратно, за да смесите съдържанието.
2. Подгответе компонентите за измиване с пресен 0,5% Tween 20 разтвор за измиване по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 6 ml разтвор за измиване във всеки резервоар на таблата за измиване.
 - b. Добавете 350 ml разтвор за измиване в бутилката за измиване с вместимост 500 ml.
3. Заредете таблата за измиване и бутилката за измиване в инструмента:
 - a. Отворете вратичката на отделението за реагенти и вратичката на охладителя за реагенти и издърпайте използваната касета за реагенти или таблата за измиване от охладителя.
 - b. Вкарайте таблата за измиване в охладителя за реагенти до спиране. Затворете вратичката на охладителя за реагенти.

- c. Повдигнете дръжката на сипера пред бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) и бутилката за отпадъци, докато се фиксира на мястото си, и подменете бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) с бутилката за измиване.

ЗАБЕЛЕЖКА Изхвърляйте бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) след всеки цикъл. Не използвайте повторно останалия MiSeqDx SBS Solution (PR2).

- d. Премахнете бутилката за отпадъци и изхвърлете съдържанието по подходящ начин. Върнете бутилката за отпадъци в отделението за реагенти.
 - e. Бавно свалете дръжката на сипера, като се уверите, че сиперите слизат в бутилката за измиване и бутилката за отпадъци.
 - f. Затворете вратичката на отделението за реагенти.
4. Изберете **Next** (Напред). Започва първото измиване.

Извършете второто измиване

1. Пригответе нов разтвор за измиване с Tween 20 и лабораторен клас вода по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 5 ml 100% Tween 20 към 45 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постигат 10% Tween 20.
 - b. Добавете 25 ml 10% Tween 20 към 475 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постига 0,5% Tween 20 разтвор за измиване.
 - c. Обърнете неколккратно, за да смесите съдържанието.
2. Когато първото измиване приключи, извадете таблата за измиване и бутилката за измиване и изхвърлете останалия разтвор за измиване.
3. Напълнете отново компонентите за измиване с пресен 0,5% Tween 20 разтвор за измиване по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 6 ml разтвор за измиване във всеки резервоар на таблата за измиване.
 - b. Добавете 350 ml разтвор за измиване в бутилката за измиване с вместимост 500 ml.
4. Заредете таблата за измиване и бутилката за измиване, както следва:
 - a. Вкарайте таблата за измиване в охладителя за реагенти до спиране. Затворете вратичката на охладителя за реагенти.
 - b. Заредете бутилката за измиване и бавно свалете дръжката на сипера, като се уверите, че сиперите слизат в бутилката за измиване и бутилката за отпадъци.
 - c. Затворете вратичката на отделението за реагенти.
5. Изберете **Next** (Напред). Започва второто измиване.

Извършете крайното измиване

1. Пригответе нов разтвор за измиване с Tween 20 и лабораторен клас вода по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 5 ml 100% Tween 20 към 45 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постигат 10% Tween 20.
 - b. Добавете 25 ml 10% Tween 20 към 475 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постига 0,5% Tween 20 разтвор за измиване.
 - c. Обърнете неколккратно, за да смесите съдържанието.
2. Когато второто измиване приключи, извадете таблата за измиване и бутилката за измиване и изхвърлете останалия разтвор за измиване.
3. Напълнете отново компонентите за измиване с пресен 0,5% Tween 20 разтвор за измиване по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 6 ml разтвор за измиване във всеки резервоар на таблата за измиване.
 - b. Добавете 350 ml разтвор за измиване в бутилката за измиване с вместимост 500 ml.
4. Заредете таблата за измиване и бутилката за измиване, както следва:
 - a. Вкарайте таблата за измиване в охладителя за реагенти до спиране. Затворете вратичката на охладителя за реагенти.
 - b. Заредете бутилката за измиване и бавно свалете дръжката на сипера, като се уверите, че сиперите слизат в бутилката за измиване и бутилката за отпадъци.
 - c. Затворете вратичката на отделението за реагенти.
5. Изберете **Next** (Напред). Започва последното измиване.

След измиването

Когато измиването приключи, оставете в инструмента използваната поточна клетка, таблата за измиване и бутилката за измиване, съдържаща остатъка от разтвора за измиване.

ЗАБЕЛЕЖКА Сиперите остават в долна позиция, което е нормално. Оставете неизползвания разтвор за измиване в таблата за измиване и измийте бутилката, за да предотвратите изсъхването на сиперите и проникването на въздух в системата.

Извършете измиване в режим на готовност

Ако не планирате да използвате инструмента през следващите 7 дни, подгответе инструмента за статичен режим, като извършите измиване в режим на готовност. Измиването в режим на готовност подготвя линиите за флуидика за статичен режим и извършва две последователни

измивания, които измиват всяка позиция на останалите реагенти или натрупването на сол. Всяко измиване отнема приблизително 60 минути. Оставете около два часа, за да завършите измиването в режим на готовност.

Когато измиването в режим на готовност приключи, инструментът е в режим на готовност и на началния екран се появява съобщение за състоянието на инструмента. Когато инструментът е в режим на готовност, трябва да се извърши измиване за поддръжка, преди да може да се започне изпълняване на секвениране.

ЗАБЕЛЕЖКА Illumina препоръчва да се повтаря измиването в режим на готовност *на всеки 30 дни*, в които инструментът е в статичен режим.

Консумативи, които се набавят от потребителя

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, каталожен № P7949)
- Лабораторен клас вода или дейонизирана вода (за насоки относно лабораторен клас вода вижте *Наръчника за подготовка на мястото на MiSeqDx (документ № 15070066)*)

Процедура

1. Уверете се, че използвана поточна клетка е заредена на инструмента.
2. От екрана Home (Начало) изберете **Perform Wash** (Извършване на измиване).
3. От екрана Wash Options (Опции за измиване) изберете **Standby Wash** (Измиване в режим на готовност). Софтуерът автоматично вдига сиперите в охладителя за реагенти.

ЗАБЕЛЕЖКА Винаги използвайте пресен разтвор за измиване за всяка стъпка на измиване. Повторното използване на разтвор за миене от предишното измиване може да върне отпадъците към линиите за флуидика.

Извършете първото измиване

1. Пригответе нов разтвор за измиване с Tween 20 и лабораторен клас вода по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 5 ml 100% Tween 20 към 45 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постигат 10% Tween 20.
 - b. Добавете 25 ml 10% Tween 20 към 475 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постига 0,5% Tween 20 разтвор за измиване.
 - c. Обърнете неколккратно, за да смесите съдържанието.
2. Подгответе компонентите за измиване с пресен 0,5% Tween 20 разтвор за измиване по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 6 ml разтвор за измиване във всеки резервоар на таблата за измиване.

- b. Добавете 350 ml разтвор за измиване в бутилката за измиване с вместимост 500 ml.
3. Заредете таблата за измиване и бутилката за измиване в инструмента:
 - a. Отворете вратичката на отделението за реагенти и вратичката на охладителя за реагенти и издърпайте използваната касета за реагенти или таблата за измиване от охладителя.
 - b. Вкарайте таблата за измиване в охладителя за реагенти до спиране. Затворете вратичката на охладителя за реагенти.
 - c. Повдигнете дръжката на сипера пред бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) и бутилката за отпадъци, докато се фиксира на мястото си, и подменете бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) с бутилката за измиване.

ЗАБЕЛЕЖКА Изхвърляйте бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) след всеки цикъл. Не използвайте повторно останалия MiSeqDx SBS Solution (PR2).

- d. Премахнете бутилката за отпадъци и изхвърлете съдържанието по подходящ начин. Върнете бутилката за отпадъци в отделението за реагенти.
- e. Бавно свалете дръжката на сипера, като се уверите, че сиперите слизат в бутилката за измиване и бутилката за отпадъци.
- f. Затворете вратичката на отделението за реагенти.
4. Изберете **Next** (Напред). Започва първото измиване.

Извършете второто измиване

1. Пригответе нов разтвор за измиване с Tween 20 и лабораторен клас вода по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 5 ml 100% Tween 20 към 45 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постигат 10% Tween 20.
 - b. Добавете 25 ml 10% Tween 20 към 475 ml лабораторен клас вода. С тези обеми се постига 0,5% Tween 20 разтвор за измиване.
 - c. Обърнете неколkokратно, за да смесите съдържанието.
2. Когато първото измиване приключи, извадете таблата за измиване и бутилката за измиване и изхвърлете останалия разтвор за измиване.
3. Напълнете отново компонентите за измиване с пресен 0,5% Tween 20 разтвор за измиване по указания по-долу начин:
 - a. Добавете 6 ml разтвор за измиване във всеки резервоар на таблата за измиване.
 - b. Добавете 350 ml разтвор за измиване в бутилката за измиване с вместимост 500 ml.
4. Заредете таблата за измиване и бутилката за измиване, както следва:
 - a. Вкарайте таблата за измиване в охладителя за реагенти до спиране. Затворете вратичката на охладителя за реагенти.

- b. Заредете бутилката за измиване и бавно свалете дръжката на сипера, като се уверите, че сиперите слизат в бутилката за измиване и бутилката за отпадъци.
 - c. Затворете вратичката на отделението за реагенти.
5. Изберете **Next** (Напред). Започва второто измиване.

След измиването

Когато измиването приключи, оставете в инструмента използваната поточна клетка, таблата за измиване и бутилката за измиване, съдържаща остатъка от разтвора за измиване.

ЗАБЕЛЕЖКА Сиперите остават в долна позиция, което е нормално. Оставете неизползвания разтвор за измиване в таблата за измиване и измийте бутилката, за да предотвратите изсъхването на сиперите и проникването на въздух в системата.

Изключване на инструмента

Най-добре е да оставяте инструмента включен по всяко време. Ако обаче инструментът трябва да бъде изключен, използвайте следната процедура, за да изключите Windows и да подготвите линиите за флуидика.

1. Извършете измиване за поддръжка. За повече информация вижте [Процедура на стр. 33](#).
2. Премахнете бутилката за отпадъци и изхвърлете съдържанието по подходящ начин. Върнете бутилката за отпадъци в отделението за реагенти.
3. Затворете вратичката на отделението за реагенти.
4. От главното меню изберете **Shut Down Instrument** (Изключване на инструмента). Тази команда изключва софтуера на инструмента.
5. Преместете превключвателя за захранване в позиция ИЗКЛ.

ЗАБЕЛЕЖКА Ако инструментът е изключен, изчакайте *минимум* 60 секунди, преди да преместите превключвателя за захранване обратно в позиция ВКЛ.

Отстраняване на неизправности

Въведение

Този раздел описва често срещаните стъпки за отстраняване на неизправности, преди да се свържете с отдела за техническа поддръжка на Illumina. За повечето грешки се появява екранно съобщение с инструкции за коригиране на грешката.

За технически въпроси посетете страниците за поддръжка на MiSeqDx на уебсайта на Illumina. Страниците за поддръжка предоставят достъп до документация, изтегляния и често задавани въпроси. За достъп до бюлетини за поддръжка влезте в акаунта си в MyIllumina.

За проблеми с качеството на изпълняването или производителността се свържете с отдела за техническа поддръжка на Illumina. За повече информация вижте [Техническа помощ на стр. 52](#).

Представителите на отдела за техническа поддръжка на Illumina обикновено изискват копия на специфични за изпълняване файлове за целите на отстраняване на неизправности. Можете да използвате функцията Bundle Logs (Обединени хронологии) на екрана Manage Files (Управление на файлове), за да комбинирате и архивирате файловете, необходими за отстраняване на неизправности.

Bundle Logs (Обединени хронологии) за отстраняване на неизправности

Bundle Logs (Обединени хронологии) е функция, която обединява файлове за изпращане до отдела за техническа поддръжка на Illumina за отстраняване на неизправности. Използвайте раздела Bundle Logs (Обединени хронологии) на екрана Manage Files (Управление на файлове), за да изберете група от файлове, наречена *обединение*. Обединението се поставя в архив автоматично.

Функцията Bundle Logs (Обединени хронологии) групира файловете от едно изпълняване в един тип обединяване. Повторете процедурата Bundle Logs (Обединени хронологии) за всяко обединяване и тип обединяване, които поиска отделът за техническа поддръжка на Illumina.

1. На екрана Manage Files (Управление на файлове) изберете раздела **Bundle Logs** (Обединени хронологии).
2. Изберете **Browse** (Преглед), за да навигирате до местоположението на папката MiSeqOutput.
3. Изберете квадратчето до изпълняването.
4. Изберете **Bundle Logs** (Обединени хронологии).

Отваря се екран Bundle Files (Файлове с обединявания) с информация за обединяването, включваща списък с отделни файлове, които обединяването съдържа.

За повече информация за отделните папки и файлове на функцията Bundle Logs (Обединени хронологии) вижте *MiSeq Output and Analysis Folders Quick Reference Card (документ № 15034791)*.

5. Изберете **Next** (Напред).
6. Навигирайте до местоположение, в което желаете да се запазват архивирани файлове с обединявания.
7. Изберете **Save** (Записване).

Когато файловете приключат с обединяването си, разделът Bundle Logs (Обединени хронологии) се отваря отново.

8. Изпратете архивираното обединяване на отдела за техническа поддръжка на Illumina.

Извършване на проверка на системата

Някои системни проверки могат да бъдат извършени, преди да се свържете с отдела за техническа поддръжка на Illumina, като например обемен тест. Обемният тест проверява функционирането на системата за флуидика, като изчислява обема на потока, докато мехурчетата преминават покрай сензорите. За повече информация вижте [Извършване на обемен тест на стр. 46](#).



ВНИМАНИЕ

Тестовите Tip/Tilt (Врх/наклон) и Full Optics (Пълна оптика) изискват специална поточна клетка и трябва да се изпълняват само от техник на Illumina.

1. От главното меню изберете **System Check** (Проверка на системата).
2. Направете едно от следните:
 - Изберете отделните тестове, които искате да извършите.
 - Изберете **Select All** (Избор на всички), за да извършите всички тестове.
3. Изберете **Next** (Напред).
Когато приключи, резултатите се показват на екрана.
4. [Незадължително] Изберете **Show Details** (Показване на подробности), за да видите обобщение на резултатите на софтуерния интерфейс.
5. [Незадължително] Изберете **Export Results** (Експортиране на резултати), за да експортирате резултатите във файлов формат *.csv на USB устройство.
6. Изберете **Done** (Готово).

Пауза или спиране на изпълняване

MiSeqDx е проектиран да завърши изпълняване от началото до края без намеса на потребителя. Възможно е обаче да направите пауза или да спрете изпълняване от екрана за секвениране.

Спиране на изпълняване на пауза

Можете временно да поставите на пауза изпълняване, преди да е завършило. Например изпълняването може да бъде спряно на пауза, ако подозирате, че бутилката за отпадъци е пълна. Изпълнявания, спрени на пауза, могат да бъдат възобновени.

Когато изберете **Pause** (Пауза), текущата команда се завършва, преди да спрете на пауза изпълняването и да поставите поточната клетка в безопасно състояние.



ВНИМАНИЕ

Не спирайте на пауза изпълняване по време на генериране на клъстери или в рамките на първите пет цикъла на секвениране. Не е възможно да се възобнови изпълняване, което е било на пауза през това време.

За да спрете на пауза изпълняване от екрана Sequencing (Секвениране) изберете **Pause** (Пауза). Бутонът се променя на **Resume** (Възобновяване). Когато сте готови да възобновите изпълняването, изберете **Resume** (Възобновяване).

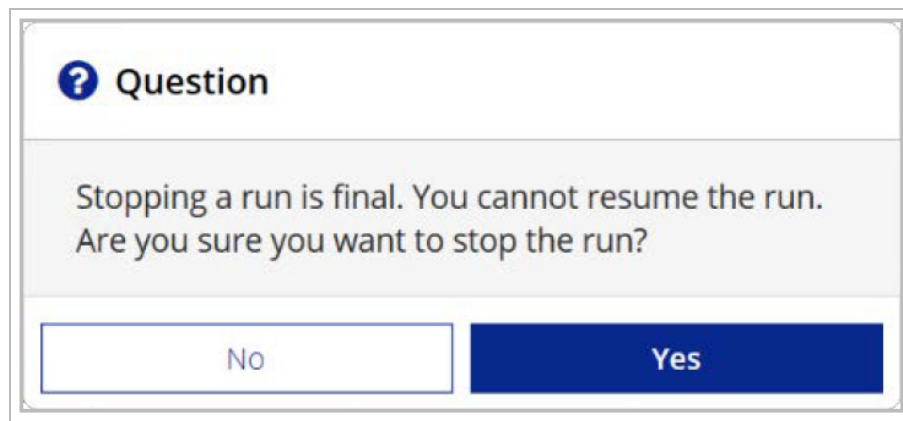
Спиране на изпълняване

Можете да спрете изпълняване по време на секвениране, преди изпълняването да е завършило, чрез бутона **Stop** (Спиране) на екрана Sequencing (Секвениране). Може да спрете изпълняване, ако изпълняването е настроено неправилно, ако качеството на данните е лошо или ако имате хардуерна грешка.

Когато изпълняването бъде спряно, текущата команда не е завършена и стойката за поточни клетки се премества в предно положение. Първичният анализ продължава за последния завършен цикъл.

За да спрете изпълняване от екрана Sequencing (Секвениране) изберете **Stop** (Спиране). Когато изпълняването бъде спряно, текущата команда не е завършена и стойката за поточни клетки се премества в предно положение. Първичният анализ продължава за последния завършен цикъл.

Фигура 16 Спиране на изпълняване



Спирането на изпълняването е окончателно. Спряно изпълняване не може да бъде продължено. Единствената възможност е да се пристъпи към измиване на инструмента.

Ръчно повдигане на сиперите на касетата с реагенти

Сиперите за касетите с реагент може да не се вдигнат автоматично, ако дадено изпълняване е било прекъснато неочаквано или ако е възникнала грешка по време на изпълняването. За да извадите касетата с реагенти, повдигнете ръчно сиперите на касетата с реагенти.

1. На екрана Home (Начало) изберете **Perform Wash** (Извършване на измиване).
2. Изберете **Raise Sippers** (Повдигане на сипери).
3. Отстранете касетата с реагенти.

Разрешаване на грешки в настройката на изпълняването

Ако някои от проверките в проверката преди изпълняване са неуспешни, до елемента се показва червена икона **X**. На екрана се появява съобщение, което описва грешката и как да я коригирате.

Грешка	действие
<p>✘ Flow Rate Measured (Измерена скорост на потока)</p>	<p>Отваря се екранът за проверка на скоростта на потока. Използвайте падащия списък или екранната клавиатура, за да въведете следното:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Решение: PR2 • Обем: 250 • Aspirate Rate (Скорост на аспириране): 2500 • Dispense Rate (Скорост на отделяне): 2500 <p>Изберете Pump (Изпомпване). Ако грешката продължи, задайте обема да изпомпва 500 µl MiSeqDx SBS Solution (PR2) и повторете процеса. Когато течностите са изпомпени, изберете Restart Check (Рестартиране на проверка).</p> <p>Когато проверката преди изпълняване е успешна, бутонът Start Run (Стартиране на изпълняване) става активен.</p> <p>Ако проверката на потока отново е неуспешна, поставете отново поточната клетка, за да се уверите, че потокът не е прекъснат поради неправилно подравняване. Проверете уплътнението на поточната клетка за власинки или неравности.</p>
<p>✘ Free Disk Space (Свободно дисково пространство)</p>	<p>Ако дисковото пространство е малко, се появява съобщение, указващо колко дисково пространство се изисква. Използвайте функцията Manage Files (Управление на файлове), за да освободите необходимото пространство от компютъра на инструмента.</p>
<p>✘ Network Connection Active (Активна мрежова връзка)</p>	<p>Уверете се, че мрежовият кабел е включен в инструмента.</p> <p>Ако мрежовата връзка не бъде възстановена, изберете Reboot (Рестартиране) на екрана Manage Instrument (Управление на инструмента), за да рестартирате софтуера.</p> <p>Ако връзката все още не е възстановена, изберете Shut Down (Изключване) на екрана Manage Instrument (Управление на инструмента) и след това изключете инструмента с помощта на превключвателя за захранване. Изчакайте поне 60 секунди и след това включете инструмента и стартирайте софтуера.</p>
<p>✘ Primary Analysis Ready (Готов първичен анализ)</p>	<p>Първичният анализ от предишното изпълняване не е завършен. По подразбиране времето за завършване на първичния анализ е един час и на екрана се появява обратно броене. Опциите са да изчакате един час или да изберете Terminate Analysis (Прекратяване на анализ). Вторичният анализ спира за всички непълни цикли.</p>

Разрешаване на неуспешно разчитане на RFID

Неуспехите при RFID се задействат, ако:

- Зареденият компонент не е част от комплекта за *in vitro* диагностика.

- Зареденият компонент не е част от комплекта, идентифициран от модула Local Run Manager.
- Има техническа повреда при четене на RFID етикета на компонента.

Следните стъпки могат да се използват за разрешаване на неуспехи при RFID в резултат на техническа неизправност.

ЗАБЕЛЕЖКА На изпълняване на диагностика се позволява по едно неуспешно разчитане на RFID. Ако RFID на два консуматива не може да бъде разчетен, софтуерът не може да премине към следващата стъпка за конфигуриране на изпълняването. Ако настъпи грешка, свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.

Поточна клетка

1. Винаги опитвайте повторно разчитането на RFID, преди да продължите. За да го направите, отворете и затворете вратичката на отделението за поточни клетки.
2. Ако RFID е неуспешно втори път, изберете **Get Code** (Получаване на код). Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina, за да получите временен код за заобикаляне на RFID. Един временен код за заобикаляне изтича след седем дни.
3. Въведете временния код за заобикаляне с помощта на екранната клавиатура.
4. Изберете **Next** (Напред).
5. Въведете следната информация:
 - Номер на баркод на поточната клетка, който се намира на етикета на контейнера на поточната клетка точно под баркода
 - Номер на част на поточната клетка
6. Изберете **Next** (Напред), за да продължите към екрана Load Flow Cell (Зареждане на поточна клетка).
7. Изберете **Next** (Напред), за да продължите към следващата стъпка за конфигуриране на изпълняването.

Бутилка с MiSeqDx SBS Solution (PR2)

1. Винаги опитвайте повторно разчитането на RFID, преди да продължите. За да го направите, вдигнете и след това свалете дръжката на сипера за реагент.
2. Ако RFID е неуспешно втори път, изберете **Get Code** (Получаване на код). Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina, за да получите временен код за заобикаляне на RFID. Един временен код за заобикаляне изтича след седем дни.
3. Въведете временния код за заобикаляне с помощта на екранната клавиатура.
4. Изберете **Next** (Напред).
5. Въведете следната информация:
 - Номер на баркод на бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2), който се намира на етикета на бутилката с MiSeqDx SBS Solution (PR2) точно под баркода

- Номер на част от бутилка с MiSeqDx SBS Solution (PR2)
6. Изберете **Next** (Напред), за да продължите към екрана Load Reagents (Зареждане на реагенти).
 7. Изберете **Next** (Напред), за да продължите към следващата стъпка за конфигуриране на изпълняването.

Касета с реактиви

1. Винаги опитвайте повторно разчитането на RFID, преди да продължите. За да го направите, отворете и затворете вратичката на охладителя за реагенти.
2. Ако RFID е неуспешно втори път, изберете **Get Code** (Получаване на код).
Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina, за да получите временен код за заобикаляне на RFID. Един временен код за заобикаляне изтича след седем дни.
3. Въведете временния код за заобикаляне с помощта на екранната клавиатура.
4. Изберете **Next** (Напред).
5. Въведете следната информация:
 - Номер на баркод на комплекта с реагенти, който се намира на етикета на комплекта точно под баркода
 - Номер на част на комплекта с реагенти
6. Изберете **Next** (Напред), за да се върнете към екрана Load Reagents (Зареждане на реагенти).
7. Изберете **Next** (Напред), за да продължите към следващата стъпка за конфигуриране на изпълняването.

Предотвратяване на рестартирания по време на изпълняване

Ако MiSeqDx се рестартира по време на изпълняване, това може да означава, че софтуерът Windows Update в мрежата е конфигуриран да инсталира автоматично актуализации на софтуера. Тази настройка трябва да е изключена по време на инсталирането. Свържете се с местния ИТ отдел за помощ относно дезактивиране на автоматичните актуализации на операционната система Windows, работеща във фонов режим на MiSeqDx.

Отстраняване на неизправности при грешки в скоростта на потока

Скоростта на потока е скоростта, с която течностите преминават през системата за флуидика ($\mu\text{l}/\text{min}$). Измерва се преди всяко изпълняване по време на предварителната проверка. Ако системата не е в състояние да измери скоростта на потока, изпомпвайте обем реагент (MiSeqDx SBS Solution (PR2)) през системата, преди да проверите отново скоростта на потока.

1. Използвайте падащия списък или екранната клавиатура, за да въведете следната информация:
 - Решение: **PR2**
 - Volume (Обем): **250 µl**
 - Aspirate Rate (Скорост на аспириране): **2500 µl/min**
 - Dispense Rate (Скорост на отделяне): **2500 µl/min**
2. Изберете **Pump** (Изпомпване).
3. Когато стъпката за изпомпване завърши, изберете **Restart Check** (Рестартиране на проверка).
4. Ако грешката продължи, задайте обема да изпомпва 500 µl MiSeqDx SBS Solution (PR2) и повторете процеса още веднъж. Свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina, ако вторият опит не поправи грешката.

Извършване на обемен тест

Запушване на линиите за флуидика може да доведе до неправилно доставяне на реагент и да повлияе на резултатите от секвенирането. Ако се съмнявате за запушване в линиите за флуидика, извършете обемен тест.

Обемният тест проверява функционирането на флуидната система, като изчислява обема между две мехурчета, когато те преминават покрай сензорите. За да направите обемен тест, таблата за измиване и бутилката за измиване трябва да се заредят с вода от лабораторен клас и да е поставена използвана поточна клетка. Следвайте инструкциите на екрана, за да извършите теста.

1. Уверете се, че използвана поточна клетка е заредена на инструмента.
2. От главното меню изберете **System Check** (Проверка на системата).
3. Изберете **Conduct Volume Test** (Извършване на обемен тест) и след това изберете **Next** (Напред).
4. Напълнете всеки резервоар на таблата за измиване с 6 ml вода от лабораторен клас.
5. Напълнете бутилката за измиване от 500 ml с 350 ml вода от лабораторен клас.
6. Заредете таблата за измиване и бутилката за измиване в инструмента.
 - a. Отворете вратичката на отделението за реагенти и вратичката на охладителя за реагенти, след което издърпайте таблата за измиване в охладителя за реагент, докато спре. Затворете вратичката на охладителя за реагенти.
 - b. Повдигнете дръжката на сипера, докато се застопори, и заредете бутилката за измиване.
 - c. Премахнете бутилката за отпадъци и изхвърлете съдържанието по подходящ начин. Върнете бутилката за отпадъци в отделението за реагенти.
 - d. Бавно свалете дръжката на сипера, като се уверите, че сиперите слизат в бутилката за измиване и бутилката за отпадъци.

7. Следвайки инструкциите на екрана, отстранете капчиците от сипера на бутилката за измиване, както следва:
 - a. Когато бъдете подканени, бавно повдигнете дръжката на сипера и проверете сипера на бутилката за измиване за наличие на голяма капчица вода.
 - b. Когато бъдете подканени, бавно спуснете дръжката на сипера достатъчно дълбоко във водата, за да позволите повърхностното напрежение да отстрани капчицата.
 - c. Когато бъдете подканени, бавно повдигнете дръжката на сипера и проверете сипера на бутилката за измиване за наличие на голяма капчица вода.
 - d. Когато бъдете подканени, бавно свалете дръжката на сипера напълно, като се уверите, че сиперите слизат в бутилката за измиване и бутилката за отпадъци.
8. Изберете **Next** (Напред). Обемният тест стартира.

Когато обемният тест приключи, резултатите се показват на екрана.

Ако тестът не е преминал успешно, извършете измиване за поддръжка. Вижте [Процедура на стр. 33](#).

9. Когато измиването за поддръжка приключи, повторете обемния тест.

Разрешаване на температурни грешки с охладител на реагент

Необходимият температурен диапазон на охладителя на реагента е от 2 °C до 11 °C. Сензорен индикатор показва температурата на охладителя на реагента. Вижте [Сензорни индикатори на стр. 5](#).

Ако получите съобщение за грешка, че охладителят не е в определения температурен диапазон, свържете се с отдела за техническа поддръжка на Illumina.

Ако температурата на охладителя е извън диапазона, това може да попречи на стартирането на секвенирането. Ако получите съобщение за грешка по време на изпълняване на секвениране, оставете изпълняването да завърши.

За повече информация за охладителя на реагент вижте [Отделение за реагенти на стр. 3](#).

Разрешаване на грешки в анализа на Local Run Manager

За информация за отстраняване на неизправности, свързани с грешки в анализа, се свържете с отдела за техническа поддръжка на Illumina. *Local Run Manager v4 Software Guide for MiSeqDx (документ № 200046657)* включва инструкции за това как да заявите анализ.

Конфигуриране на настройките на системата

MOS включва раздели, които имат достъп до команди за конфигуриране на системата.

- IP и DNS настройките се конфигурират в раздела IP. За да използвате тази функция, е необходимо ниво на достъп на администратор на Windows.
- Мрежовите настройки и настройките за стартиране се конфигурират в следните раздели:
 - Network Credentials (Мрежови идентификационни данни) – за да използвате тази функция, е необходимо ниво на достъп на администратор на Windows.
 - Start-Up Options (Опции за стартиране) – За да използвате тази функция, е необходимо ниво на достъп на администратор на Local Run Manager.

Обикновено тези настройки на системата се конфигурират по време на инсталацията на MiSeqDx.

Конфигуриране на настройки на IP и DNS

Конфигурирайте IP адреса и адресите на DNS сървър, ако е необходимо поради промяна в мрежата или базата. За да конфигурирате тази функция, е необходимо ниво на достъп на администратор на Windows.

1. От главното меню изберете **System Settings** (Настройки на системата).
2. Изберете IP раздел и след това изберете от следните опции, за да настроите IP адреса:
 - **Obtain an IP address automatically** (Автоматично получаване на IP адрес) – изберете тази опция, за да получите IP адреса чрез сървър с Протокол за динамична конфигурация на хоста (DHCP).

ЗАБЕЛЕЖКА Протоколът за динамична конфигурация на хоста (DHCP) е стандартен мрежов протокол, използван в IP мрежи за динамично разпределение на мрежовите конфигурационни параметри.

- **Use the following IP address** (Използвайте следния IP адрес) – изберете тази опция, за да свържете инструмента към друг сървър ръчно, както следва. Свържете се с вашия мрежов администратор за адресите, специфични за вашата база.
 - Въведете IP адрес. IP адресът е поредица от четири числа, разделени с точка, подобно например на 168.62.20.37.
 - Въведете маската на подмрежата, която е подразделение на IP мрежата.
 - Въведете шлюза по подразбиране, който е рутерът в мрежата, който се свързва с интернет.
3. Изберете от следните опции, за да настроите DNS адреса:
 - **Obtain a DNS address automatically** (Автоматично получаване на DNS адрес) – разчита DNS адреса, свързан с IP адреса.
 - **Use the following DNS addresses** (Използване на следните DNS адреси) – свързва инструмента към сървър, който превежда имената на домейни в IP адреси.
 - Въведете предпочитания DNS адрес. DNS адресът е името на сървъра, използвано за превод на имена на домейни в IP адреси.
 - Въведете алтернативен DNS адрес. Алтернативният вариант се използва, ако предпочитаният DNS не може да преведе конкретно име на домейн в IP адрес.
 4. Изберете **Save** (Записване).

Конфигуриране на мрежовите настройки и настройките за стартиране

Конфигурирайте мрежовите настройки и настройките за стартиране в раздела Network Credentials (Мрежови идентификационни данни) (изисква се ниво на достъп на администратор на Windows, за да използвате тази функция) и раздела Start-Up Options (Опции за стартиране) (изисква се ниво на достъп на администратор на Local Run Manager).

1. От главното меню изберете **System Settings** (Настройки на системата).
2. Изберете раздела Network Credentials (Мрежови идентификационни данни) и след това конфигурирайте мрежовите настройки, както следва.
3. Името на машината се присвоява на компютъра на инструмента по време на производството. Обикновено не е необходимо да промените името на машината. Всички промени, направени в името на машината на този екран, могат да повлияят на свързаността и да изискват потребителско име и парола на мрежов администратор.
Името на машината се записва като име на инструмента в изхода на софтуера Local Run Manager.
4. Свържете компютъра на инструмента към домейн или работна група, както следва.
 - **За инструменти, свързани с интернет** – изберете **Domain** (Домейн) и след това въведете име на домейн, свързано с интернет връзката във вашата база.
 - **За инструменти, които не са свързани с интернет** – изберете **Workgroup** (Работна група) и въведете име на работната група.
5. Изберете раздела Start-Up Options (Опции за стартиране) и след това изберете от следните опции:
 - **Kiosk Mode** (Режим Киоск) (препоръчва се) – показва интерфейса на контролния софтуер на цял екран. Софтуерът е предназначен да работи в режим Киоск.
 - **Windows Mode** (Режим Windows) – позволява достъп до Windows на компютъра на инструмента. Взаимодействието със софтуерния интерфейс, като местоположението на бутоните, може да се промени в този режим.
6. Изберете **Save** (Записване).

Изходни папки

Папки за изпълняване

Всяко изпълняване на MiSeqDx генерира три папки за изпълняване, всяка със специфична цел:

- **D:\Illumina\MiSeqTemp** – когато започне изпълняването, временна папка за изпълняване се записва на локалното устройство на компютъра на инструмента и се използва като работна зона за MOS и RTA. Няма нужда от достъп до папката Temp. Съдържанието на тази папка се изтрива след седем дни.
- **D:\Illumina\MiSeqOutput** – RTA копира файлове от папката Temp в папката Output. Докато се генерират файлове за първичен анализ, RTA копира файлове обратно в папката Temp и попълва папката Analysis. Фокусните изображения и миниатюрите не се копират в папката Analysis.
- **D:\Illumina\MiSeqAnalysis** – когато първичният анализ приключи, Local Run Manager има достъп до папката Analysis на локалното устройство на инструмента, за да започне вторичен анализ. Всички файлове, записани в папката Analysis, се копират в папката Output.

Име на основната папка

Името на основната папка за изпълняване идентифицира датата на изпълняването, номера на инструмента и поточната клетка, използвана за изпълняването. За всяко едно изпълняване всяка папка за изпълняване има едно и също име на основната папка.

По подразбиране името на папката използва следния формат:

ГГММДД_<Номер на инструмент>_<Номер на изпълняване>_А<Баркод на поточна клетка>

Номерът на изпълняването се увеличава с едно всеки път, когато се извършва изпълняване на даден инструмент.

Техническа помощ

За техническа помощ се свържете с отдела за техническа поддръжка на Illumina.

Уеб сайт: www.illumina.com

Имейл: techsupport@illumina.com

Информационни листове за безопасност (SDS) – налични на уеб сайта на Illumina на адрес support.illumina.com/sds.html.

Документация на продукта – налична за изтегляне от support.illumina.com.



Illumina, Inc.
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 САЩ
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (извън Северна Америка)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

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

ЗА IN VITRO ДИАГНОСТИЧНА УПОТРЕБА.

© 2023 г. Illumina, Inc. Всички права запазени.

illumina®