

MiniSeq

Systemhandleiding



Dit document en de inhoud ervan zijn eigendom van Illumina, Inc. en haar dochterondernemingen ('Illumina'), en zijn alleen bedoeld voor contractueel gebruik door haar klanten in verband met het gebruik van de hierin beschreven producten en voor geen enkel ander doel. Dit document en de inhoud ervan mogen niet worden gebruikt of gedistribueerd voor welk ander doel dan ook en/of op een andere manier worden gecommuniceerd, geopenbaard of gereproduceerd zonder de voorafgaande schriftelijke toestemming van Illumina. Illumina geeft door middel van dit document geen licenties onder haar patent, handelsmerk, auteursrecht of gewoonterechten noch soortgelijke rechten van derden door.

De instructies in dit document moeten strikt en uitdrukkelijk worden opgevolgd door gekwalificeerd en voldoende opgeleid personeel om een correct en veilig gebruik van de hierin beschreven producten te waarborgen. Alle inhoud van dit document moet volledig worden gelezen en begrepen voordat dergelijke producten worden gebruikt.

HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT KAN RESULTEREN IN SCHADE AAN DE PRODUCTEN, LETSEL AAN PERSONEN (INCLUSIEF GEBRUIKERS OF ANDEREN) EN SCHADE AAN ANDERE EIGENDOMMEN. BIJ HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT VERVALLEN ALLE GARANTIES DIE VAN TOEPASSING ZIJN OP HET PRODUCT.

ILLUMINA IS OP GEEN ENKELE MANIER AANSPRAKELIJK VOOR GEVOLGEN VAN EEN ONJUIST GEBRUIK VAN DE PRODUCTEN DIE HIERIN WORDEN BESCHREVEN (INCLUSIEF DELEN DAARVAN OF SOFTWARE).

© 2021 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.

Alle handelsmerken zijn het eigendom van Illumina, Inc. of hun respectievelijke eigenaren. Ga naar www.illumina.com/company/legal.html voor meer informatie over specifieke handelsmerken.

Revisiegeschiedenis

Document	Datum	Omschrijving van wijziging
Materiaalnr. 20014309 Documentnr. 1000000002695 v05	April 2021	Index gewijzigd van 8 cycli naar 10 cycli.
Materiaalnr. 20014309 Documentnr. 1000000002695 v04	September 2020	Laadconcentratie en software-informatie bijgewerkt zodat deze rapid kits (snelle kits) omvatten.
Materiaalnr. 20014309 Documentnr. 1000000002695 v03	Februari 2020	Workflowinformatie voor handmatige en Local Run Manager-runopties bijgewerkt. Vooraf geïnstalleerde genomen bijgewerkt: Bacillus_cereus_ATCC_10987 verwijderd en HumanRNAFusion toegevoegd. Informatie over BaseSpace Onsite verwijderd, aangezien dit niet langer wordt ondersteund. Kleine tekstbewerkingen.
Materiaalnr. 20014309 Documentnr. 1000000002695 v02	Maart 2018	Informatie over de Proactive-bewakingservice van Illumina toegevoegd in het gedeelte Analyse-instellingen configureren. Standaard gebruikersnaam en wachtwoord verwijderd die vereist waren om bij het besturingssysteem in te loggen. Illumina beveelt site-specifieke toegangsgegevens aan. Kleine tekstbewerkingen.
Materiaalnr. 20014309 Documentnr. 1000000002695 v01	September 2016	Softwarebeschrijvingen voor MiniSeq Control Software v1.1.8 bijgewerkt, die ook de Demo Mode (Demo-modus) omvat. De duur van de automatische wassing na de run bijgewerkt naar 60 minuten. Een serverconfiguratiestap toegevoegd aan de instructies voor het selecteren van BaseSpace voor analyse. Vermeld dat toegewezen schijven niet worden ondersteund door de Local Run Manager Software.
Materiaalnr. 20002370 Documentnr. 1000000002695 v00	Januari 2016	Eerste uitgave.

Inhoudsopgave

Hoofdstuk 1 Overzicht	1
Inleiding	1
Aanvullende hulpmiddelen	1
Instrumentonderdelen	2
Overzicht verbruiksartikelen sequencing	5
Vooraf geïnstalleerde databases en genomen	7
Hoofdstuk 2 Aan de slag	8
Het instrument opstarten	8
Systeeminstellingen aanpassen	9
Door de gebruiker geleverde verbruiksartikelen en apparatuur	10
Hoofdstuk 3 Sequencing	12
Inleiding	12
Verbruiksartikelen voorbereiden	13
Bibliotheken voorbereiden voor sequencing	14
Een sequencing-run instellen	14
De voortgang van de run bewaken	22
Automatische wassing na de run	24
Gebruikt reservoir uit positie 9 verwijderen	24
Hoofdstuk 4 Onderhoud	26
Inleiding	26
Een handmatige instrumentwassing uitvoeren	26
Software-updates	29
Bijlage A Problemen oplossen	32
Probleemoplossingsbestanden	32
Automatische controle op fouten	33
RTA-fouten	34
Workflow-rehybridisatie	35
Systeemcontrole	37
Netwerkconfiguratie-instellingen	39
Aangepaste genomen	40
Het instrument uitschakelen	41
Bijlage B Real-Time Analysis	42
Overzicht Real-Time Analysis	42
Invoer- en uitvoerbestanden	42
Workflow Real-Time Analysis	43
Bijlage C Uitvoerbestanden	46

Sequencinguitvoerbestanden	46
Structuur uitvoermap sequencing	47
Vereisten analyse-inputbestand	47
Index	48
Technische ondersteuning	51

Hoofdstuk 1 Overzicht

Inleiding	1
Aanvullende hulpmiddelen	1
Instrumentonderdelen	2
Overzicht verbruiksartikelen sequencing	5
Vooraf geïnstalleerde databases en genomen	7

Inleiding

Het MiniSeq™-systeem van Illumina® biedt hoogwaardige sequencingtechnologie van Illumina volgens industriestandaarden met het gemak van een eenvoudig te gebruiken en kostefficiënt desktop-systeem.

Functionaliteiten

- ▶ **Sequencing van hoge kwaliteit** — Het MiniSeq System maakt kleine genomen, amplicons, gerichte verrijking en RNA-sequencing met kleine bibliotheekvolumes mogelijk.
- ▶ **MiniSeq-systeemsoftware** — Het MiniSeq System omvat een pakket geïntegreerde software die instrumentbewerkingen stuurt, beelden verwerkt en basebepalingen genereert. Het pakket omvat gegevensanalysesoftware op het instrument en gegevensoverdrachtfuncties voor analyse met andere opties, zoals BaseSpace Sequence Hub.
 - ▶ **Gegevensanalyse op het instrument** — De Local Run Manager Software analyseert rungegevens in overeenstemming met de analysemodule die is gespecificeerd voor de run. In de software is een pakket met analysemodules opgenomen.
 - ▶ **BaseSpace™ Sequence Hub-integratie** — De sequencingworkflow is geïntegreerd met BaseSpace Sequence Hub, de Illumina genomen-cloud computing-omgeving voor runbewaking, gegevensanalyse, opslag en samenwerking. De uitvoerbestanden worden realtime naar BaseSpace Sequence Hub gestreamed voor analysedoeleinden.
- ▶ **Handig laden van verbruiksartikelen** — Een klemmechanisme positioneert de stroomcel wanneer deze op het instrument wordt geladen. Een voorgevulde reagenscartridge voor eenmalig gebruik levert de reagentia die nodig zijn voor een run en de daarop volgende instrumentwassing. De stroomcel en reagenscartridge bevatten geïntegreerde identificatie om nauwkeurige tracering mogelijk te maken.

Aanvullende hulpmiddelen

De [ondersteuningspagina's voor het MiniSeq System](#) op de website van Illumina bieden extra middelen. Deze middelen zijn onder andere software, training, compatibele producten en de volgende documentatie. Controleer altijd de ondersteuningspagina's voor de meest recente versies.

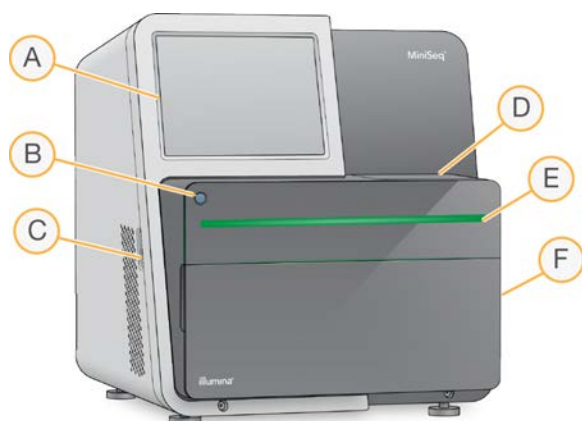
Hulpmiddel	Omschrijving
<i>Keuzeoptie aangepast protocol</i>	Een wizard voor het genereren van aangepaste eind-tot-eind documentatie die is aangepast aan de bibliotheekvoorbereidingsmethode, runparameters en analysemethode gebruikt voor de sequencing-run.
<i>MiniSeq System Site Prep Guide (Handleiding voorbereiding locatie MiniSeq-systeem) (documentnr. 1000000002696)</i>	Dit document bevat de specificaties voor de laboratoriumruimte, de elektrische vereisten en de overwegingen ten aanzien van de omgeving.

Hulpmiddel	Omschrijving
<i>MiniSeq System Safety and Compliance Guide (Handleiding veiligheid en conformiteit voor het MiniSeq-systeem) (documentnr. 100000002698)</i>	Geeft informatie over overwegingen aangaande operationele veiligheid, nalevingsverklaringen en instrumentetikettering.
<i>Handleiding naleving RFID-lezer (documentnr. 100000002699)</i>	Dit document bevat informatie over de RFID-lezer van het instrument, nalevingscertificaten en veiligheidsoverwegingen.
<i>MiniSeq System Denature and Dilute Libraries Guide (Handleiding denatureren en verdunnen bibliotheken MiniSeq-systeem) (documentnr. 100000002697)</i>	Geeft instructies over het denatureren en verdunnen van geprepareerde bibliotheken voor een sequencing-run, en het voorbereiden van een optionele PhiX-controle.
<i>Handleiding Local Run Manager Software (documentnr. 100000002702)</i>	Biedt informatie over het gebruik van de Local Run Manager Software en beschikbare analyse-opties.

Instrumentonderdelen

Het MiniSeq System omvat een monitor met touchscreen, een statusbalk, een stroomcelcompartiment en een reagenscompartiment.

Afbeelding 1 Instrumentonderdelen

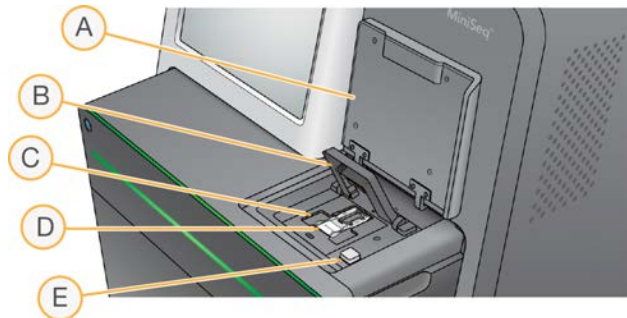


- A **Monitor met touchscreen** — Maakt configuratie en installatie op het instrument mogelijk via de besturingsoftware-interface.
- B **Aan-uitknop** — Schakelt de geïntegreerde instrumentcomputer en het besturingssysteem in.
- C **USB-poorten** — Handige aansluitingen voor randapparatuur.
- D **Stroomcelcompartiment** — Hierin zit de stroomcel tijdens een sequencing-run.
- E **Statusbalk** — Geeft de instrumentstatus aan als aan het verwerken (blauw), aandacht nodig (oranje), klaar om te sequencen (groen) of dat er een wassing moet worden gedaan in de komende 24 uur (geel).
- F **Reagenscompartiment** — Hierin zit de reagenscartridge en fles voor gebruikte reagentia.

Stroomcelcompartiment

Het stroomcelplatform omvat de stroomcelvergrendeling, waarmee de stroomcel wordt vastgezet als de vergrendeling wordt gesloten. Terwijl de vergrendeling wordt gesloten, lijnen pennen nabij de onderkant van de vergrendeling de stroomcelpoorten uit met vloeistofverbindingen.

Afbeelding 2 Stroomcelcompartiment



- A Klep van stroomcelcompartiment
- B Stroomcelvergrendeling
- C Stroomcelplatform
- D Stroomcel
- E Ontgrendelknop van de stroomcel

Het thermische station, dat zich onder het stroomcelplatform bevindt, regelt de veranderingen in de temperatuur die nodig zijn voor de vorming en sequencing van clusters.



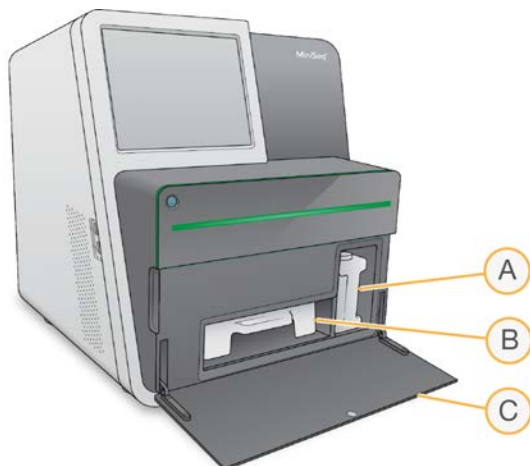
OPMERKING

Plaats geen objecten op het instrument in de buurt van het stroomcelcompartiment.

Reagenscompartiment

Het instellen van een sequencing-run op het MiniSeq System vereist toegang tot het reagenscompartiment om verbruiksartikelen voor de run te laden en de fles voor lege reagentia te legen.

Afbeelding 3 Reagenscompartiment



- A Fles voor gebruikte reagentia — Met een schroefdop om morsen te voorkomen bij het dragen.
- B Reagenscartridge — Biedt reagentia in een voorgevuld verbruiksartikel voor eenmalig gebruik.
- C Klep reagenscompartiment — Biedt toegang tot het reagenscompartiment.

De klep van het reagenscompartiment opent naar buiten toe met scharnieren aan de onderrand van het instrument. Trek om de klep te openen deze voorzichtig naar voren aan de zijranden van de klep.

**OPMERKING**

Plaats geen objecten op de klep van het reagenscompartiment. De compartimentklep is niet ontworpen om als plank te worden gebruikt.

Aan-uitknop

De aan-uitknop aan de voorkant van het instrument schakelt de voeding naar het instrument en de instrumentcomputer in. De aan-uitknop voert de volgende acties uit, afhankelijk van de status van de instrumentvoeding.

Voedingsstatus	Actie
Instrument is uitgeschakeld	Druk kort op de knop om het apparaat in te schakelen.
Instrument is ingeschakeld	Druk kort op de knop om het apparaat uit te schakelen. Er verschijnt een dialoogvenster op het scherm om te bevestigen dat het instrument op normale wijze wordt uitgeschakeld.
Instrument is ingeschakeld	Houd de aan-uitknop 10 seconden ingedrukt om het instrument en de instrumentcomputer geforceerd uit te schakelen. Gebruik deze methode alleen om het instrument uit te schakelen als het instrument niet reageert.

**OPMERKING**

Schakel onder normale omstandigheden de stroom naar het instrument niet uit.

Als u het instrument uitschakelt tijdens een sequencing-run, wordt de run onmiddellijk beëindigd. Beëindiging van een run is definitief. Verbruiksartikelen van een run kunnen niet worden hergebruikt en sequencinggegevens worden niet bewaard.






Systeemsoftware

Het instrumentsoftwarepakket bevat geïntegreerde toepassingen waarmee sequencing-runs en analyses op het instrument kunnen worden uitgevoerd.

- ▶ **MiniSeq Control Software** — De besturingssoftware leidt u door de stappen voor het instellen van een sequencing-run, bestuurt instrumenthandelingen en toont een overzicht van runstatistieken terwijl de run wordt uitgevoerd.
- ▶ **Real-Time Analysis Software (RTA-software)** — RTA voert beeldanalyses en basebepalingen uit tijdens de run. Raadpleeg *Overzicht Real-Time Analysis* op pagina 42.
- ▶ **Local Run Manager** — Gebruik voorafgaand aan de sequencing Local Run Manager om runparameters en de analysemethode te specificeren. Na sequencing begint automatisch de gegevensanalyse op het instrument. Raadpleeg de *Handleiding Local Run Manager Software (documentnr. 1000000002702)* voor meer informatie.

Statuspictogrammen

Een statuspictogram in de rechterbovenhoek van het interfacescherm van de besturingssoftware geeft een wijziging in de omstandigheden tijdens het instellen van de run of tijdens de run zelf aan.

Statuspictogram	Naam status	Omschrijving
	Status OK	Systeem werkt normaal.
	Processing (Bezig met verwerken)	Het systeem is bezig met verwerken.
	Attention (Attentie)	Uw aandacht is nodig.
	Warning (Waarschuwing)	Er wordt een waarschuwing weergegeven. Waarschuwingen stoppen een run niet en vereisen geen actie voordat u verder gaat.
	Fout	Er is een fout opgetreden. Foutmeldingen vereisen een actie alvorens een run kan worden voortgezet.

Wanneer de toestand verandert, knippert het pictogram om u te waarschuwen. Selecteer het pictogram om een beschrijving van de situatie te bekijken. Selecteer **Acknowledge** (Bevestigen) om het bericht te accepteren en **Close** (Sluiten) om het dialogvenster te sluiten.

Overzicht verbruiksartikelen sequencing

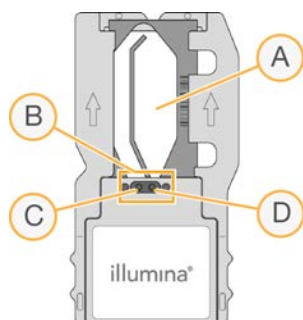
Het uitvoeren van een sequencing-run op het MiniSeq System vereist een MiniSeq Kit voor eenmalig gebruik. Elke kit bevat een stroomcel en de reagentia die vereist zijn voor een sequencing-run.

De stroomcel en reagenscartridge maken gebruik van radiofrequentie-identificatie (RFID) voor nauwkeurige tracering van verbruiksartikelen en om compatibiliteit met gespecificeerde runparameters te garanderen.

Stroomcel

De stroomcel is een glazen substraat waarop clusters worden gegenereerd en de sequencingreactie wordt uitgevoerd. De stroomcel is ingesloten in een stroomcelcartridge.

Afbeelding 4 Onderdelen flowcell



- A Beeldvormingsgebied
- B Stroomcelpakking
- C Uitlaatpoort
- D Inlaatpoort

De reagentia komen de stroomcel binnen via de inlaatpoort, gaan door het beeldvormingsgebied, dat een enkele baan heeft, en verlaten de stroomcel via de uitlaatpoort.

De stroomcel wordt droog verstuurd in een stroomcelbuisje dat in een folieverpakking is gewikkeld. Bewaar de stroomcel bij 2 °C tot 8 °C in het verzegelde foliepakket tot gebruik. Raadpleeg voor meer informatie *De stroomcel prepareren op pagina 13*.

Overzicht reagenscartridge

De reagenscartridge is een verbruiksartikel voor eenmalig gebruik met met folie afgedichte reservoirs die vooraf gevuld zijn met cluster-, sequencing- en wasreagentia.

Afbeelding 5 Reagenscartridge



De reagenscartridge bevat een speciaal reservoir voor het laden van voorbereide bibliotheken. Zodra de run start worden bibliotheken automatisch van de reagenscartridge naar de stroomcel overgedragen.



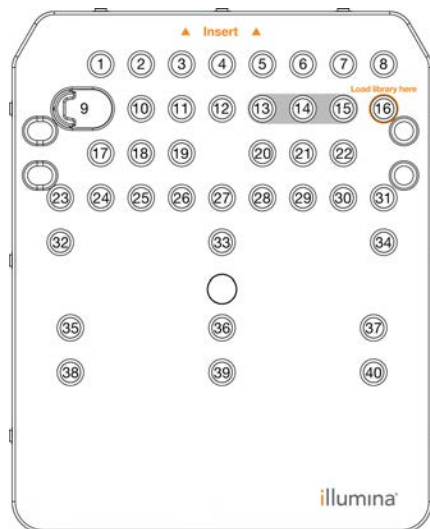
WAARSCHUWING

Deze set reagentia bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving. Raadpleeg voor aanvullende informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad op support.illumina.com/sds.html.

Bewaar de reagenscartridge bij -25 °C tot -15 °C tot gebruik. Raadpleeg voor meer informatie *De reagenscartridge prepareren op pagina 13*.

Gereserveerde reservoirs

Afbeelding 6 Genummerde reservoirs



Positie	Omschrijving
13, 14 en 15	Gereserveerd voor optionele aangepaste primers
16	Bibliotheken laden

Verwijderbaar reservoir in positie 9

De voorgevulde reagenscartridge bevat een denaturatiereagens op positie 9 dat formamide bevat. Om het veilig verwijderen van eventueel ongebruikt reagens na de run mogelijk te maken, is dit reservoir verwijderbaar. Raadpleeg voor meer informatie [Gebruikt reservoir uit positie 9 verwijderen op pagina 24](#).

Vooraf geïnstalleerde databases en genomen

Voor de meeste analysemethoden is een referentie vereist om uitlijning uit te voeren. Er zijn verschillende referentiedatabases en genomen vooraf op de instrumentcomputer geïnstalleerd.

Vooraf geïnstalleerd	Omschrijving
Databases	<ul style="list-style-type: none"> • miRbase voor mensen • dbSNP voor mensen • RefGene voor mensen
Genomen	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Arabidopsis thaliana</i> • <i>Bacillus_cereus_ATCC_10987</i> • bovien (<i>Bos taurus</i>) • <i>E. coli</i>-stam DH10B • <i>E. coli</i>-stam MG1655 • fruitvlieg (<i>Drosophila melanogaster</i>) • mens (<i>Homo sapiens</i>) versie hg19 • <i>HumanRNAFusion</i> • muis (<i>Mus musculus</i>) • PhiX • rat (<i>Rattus norvegicus</i>) • <i>Rhodobacter sphaeroides</i> 2.4.1 • <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 8325 • gist (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S288C)

Hoofdstuk 2 Aan de slag

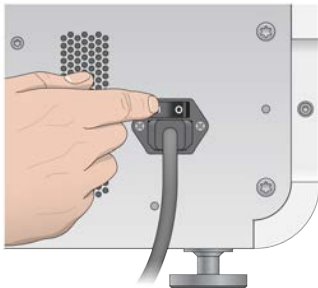
Het instrument opstarten	8
Systeeminstellingen aanpassen	9
Door de gebruiker geleverde verbruiksartikelen en apparatuur	10

Het instrument opstarten

Zorg dat het instrument correct is geïnstalleerd en geïntialiseerd, en dat de configuratie van het instrument is voltooid. Opstarten van het instrument voordat het klaar is, kan het systeem schaden.

- 1 Zet de aan-uitschakelaar op positie I (aan).

Afbeelding 7 De aan-uitschakelaar op de achterkant van het instrument



- 2 Druk op de aan-uitknop boven het reagenscompartiment.
De aan-uitknop schakelt de geïntegreerde instrumentcomputer en het besturingssysteem in.

Afbeelding 8 De aan-uitknop op de voorkant van het instrument



- 3 Wacht tot het besturingssysteem klaar is met laden.
Het startscherm van Windows wordt geopend na de initialisatie. Druk op een willekeurige toets om het Windows-inlogscherm te openen.
- 4 Log in met het gewenste Windows-account. Vraag, indien nodig, uw faciliteitsbeheerder om de gebruikersnaam en het wachtwoord.
- 5 Als een algemeen gebruikersaccount gekozen is, dan lanceert en initialiseert de MiniSeq Control Software het systeem automatisch. Als een beheerdersaccount gekozen is, dan moet de MiniSeq Control Software worden gelanceerd door te dubbelklikken op het pictogram voor het MiniSeq System op het bureaublad.

Stysteeminstellingen aanpassen

De besturingssoftware omvat aanpasbare instellingen voor instrumentidentificatie en de volgende workflow-voorkeuren:

- ▶ Het schermtoetsenbord gebruiken voor de stappen voor het instellen van een run.
- ▶ Verbruiksartikelen verwijderen na afloop van een run.
- ▶ Audio-indicatoren inschakelen.
- ▶ Instrumentprestatiegegevens versturen naar Illumina.
- ▶ Bevestigingscontrole voorafgaand aan de run overslaan om de run automatisch te starten.
- ▶ Automatisch controleren op software-updates (in BaseSpace Sequence Hub).
- ▶ Voorschriften van klanten inschakelen.

Instrumentidentificatie aanpassen

- 1 Selecteer **System Customization** (Aanpassing systeem) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren).
- 2 Selecteer **Browse** (Bladeren) en navigeer naar een gewenste afbeelding om een afbeelding voor de avatar van het instrument toe te wijzen.
- 3 In het veld Nick Name (Bijnaam) kan een voorkeursnaam voor het instrument worden ingevoerd.
- 4 Selecteer **Save** (Opslaan) om instellingen op te slaan en door te gaan naar het volgende scherm. De afbeelding en naam verschijnen in de linker bovenhoek van elk scherm.

Optie voor automatisch verwijderen instellen

- 1 Selecteer **System Customization** (Aanpassing systeem) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren).
- 2 Vink het selectievakje **Purge consumables at end of run** (Verbruiksartikelen na afloop van de run verwijderen) aan.
Deze instelling brengt na elke run automatisch ongebruikte reagentia uit de reagenscartridge over naar de fles met ongebruikte reagentia. Als deze instelling is uitgeschakeld, dan blijven ongebruikte reagentia achter in de reagenscartridge.



OPMERKING

Bij automatisch verwijderen van verbruiksartikelen zal de workflow langer zijn. Het verwijderen van reagentia na een run met 300 cycli (2 x 151) duurt ongeveer 50 minuten.

- 3 Selecteer **Save** (Opslaan) om de instellingen op te slaan en het scherm te sluiten.

Optie voor automatisch starten instellen

- 1 Selecteer **System Customization** (Aanpassing systeem) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren).
- 2 Vink het selectievakje **Skip pre-run check confirmation** (Bevestigingscontrole voorafgaand aan de run overslaan) aan.
Met deze instelling wordt de sequencing-run automatisch gestart nadat de automatische controle met succes is uitgevoerd. Als deze instelling is uitgeschakeld, start u de run handmatig na de pre-runcontrole.

- 3 Selecteer **Save** (Opslaan).

Automatische controle voor software-updates instellen

- 1 Selecteer **System Customization** (Aanpassing systeem) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren).
- 2 Vink het selectievakje **Autocheck for software updates** (Automatisch controleren op software-updates) aan.
Een internetverbinding is vereist.
- 3 Selecteer **Save** (Opslaan) om de instellingen op te slaan en het scherm te sluiten.

Optie Schermtoetsenbord instellen

- 1 Selecteer **System Customization** (Aanpassing systeem) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren).
- 2 Vink het selectievakje **Use on-screen keyboard** (Schermtoetsenbord gebruiken) aan.
Met deze instelling wordt het schermtoetsenbord ingeschakeld voor invoer tijdens de stappen van het instellen van een run.
- 3 Selecteer **Save** (Opslaan).

Audio-indicatoren inschakelen

- 1 Selecteer **System Customization** (Aanpassing systeem) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren).
- 2 Vink het vakje **Play audio** (Audio afspelen) aan om audio-indicatoren in te schakelen voor de volgende gebeurtenissen.
 - ▶ Bij initialisatie van het instrument
 - ▶ Wanneer een run wordt gestart
 - ▶ Wanneer er fouten optreden
 - ▶ Wanneer interactie van de gebruiker vereist is
 - ▶ Wanneer een run is voltooid
- 3 Selecteer **Save** (Opslaan).

Prestatiegegevens van het instrument naar Illumina versturen

De optie Send Instrument Performance Data to Illumina (Prestatiegegevens van het instrument naar Illumina versturen) staat standaard ingeschakeld. Hiermee worden niet-run prestatiegegevens van het instrument verstuurd naar een BaseSpace Sequence Hub-server.

Door de gebruiker geleverde verbruiksartikelen en apparatuur

De volgende geleverde verbruiksartikelen en apparatuur worden gebruikt voor sequencing en systeemonderhoud.

Verbruiksartikelen voor sequencing

Verbruiksartikel	Leverancier	Doel
1 N NaOH (natriumhydroxide)	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Bibliotheekdenaturatie, verdund tot 0,1 N
Isopropylalcoholdoekjes, 70% of Ethanol, 70%	VWR, catalogusnr. 95041-714 (of gelijkwaardig) Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Reiniging van de stroomcel en algemeen gebruik
Wegwerphandschoenen, poedervrij	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Algemeen gebruik
Labweefsel, pluisarm	VWR, catalogusnr. 21905-026 (of gelijkwaardig)	Stroomcelreiniging

Verbruiksartikelen voor onderhoud en probleemoplossing

Verbruiksartikel	Leverancier	Doel
NaOCl, 5% (natriumhypochloriet)	Sigma-Aldrich, catalogusnr. 239305 (of gelijkwaardig product van laboratoriumkwaliteit)	Het uitvoeren van een handmatige wassing na de run; verdund tot 0,12%
Tween 20	Sigma-Aldrich, catalogusnr. P7949	Het uitvoeren van een handmatige instrumentwassing; verdund tot 0,05%
Water van laboratoriumkwaliteit	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden	Het uitvoeren van een handmatige instrumentwassing

Richtlijnen voor water van laboratoriumkwaliteit

Gebruik altijd water van laboratoriumkwaliteit of gedestilleerd water om de instrumentprocedures uit te voeren. Gebruik nooit kraanwater. Gebruik alleen water van de volgende kwaliteit of vergelijkbaar:

- ▶ Gedestilleerd water
- ▶ Illumina PW1
- ▶ 18 megohm (MΩ) water
- ▶ Milli-Q-water
- ▶ Super-Q-water
- ▶ Water van moleculaire-biologiekwaliteit

Apparatuur

Artikel	Bron
Vriezer, -25 °C tot -15 °C, vorstvrij	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden
IJsemmer	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden
Koelkast, 2 °C tot 8 °C	Algemene leverancier van laboratoriumbenodigdheden

Hoofdstuk 3 Sequencing

Inleiding	12
Verbruiksartikelen voorbereiden	13
Bibliotheken voorbereiden voor sequencing	14
Een sequencing-run instellen	14
De voortgang van de run bewaken	22
Automatische wassing na de run	24
Gebruikt reservoir uit positie 9 verwijderen	24

Inleiding

Om een sequencing-run uit te voeren op het MiniSeq-systeem, moet u verbruiksartikelen voor de run voorbereiden en vervolgens de software-aanwijzingen opvolgen om de sequencing-run in te stellen.

Overzicht van de workflow

Genereren van cluster

Tijdens het genereren van een cluster worden enkele DNA-moleculen aan het oppervlak van de stroomcel gebonden en vervolgens geamplificeerd tot ze clusters vormen.

Sequencing

Clusters worden afgebeeld met behulp van 2-kanaalssequencingchemie en filtercombinaties specifiek voor elk van de fluorescent gelabelde ketenbeëindigers. Nadat de beeldvorming van een tegel op de stroomcel is voltooid, wordt de volgende tegel in beeld gebracht. Het proces wordt voor elke sequencing-cyclus herhaald. Na de beeldanalyse voert de software basebepaling, filtering en kwaliteitsscorebepaling uit.

Analyse

Naarmate de run vordert zal de besturingssoftware automatisch basebepalingsbestanden (BCL-bestanden) naar de aangegeven uitvoerlocatie versturen voor gegevensanalyse. Er zijn verschillende analysemethoden beschikbaar afhankelijk van uw toepassing en de geselecteerde analyseconfiguratie voor uw systeem.

Duur sequencing-run

De duur van de sequencing-run is afhankelijk van het aantal cycli dat is uitgevoerd. De maximale runlengte is een paired-end run van 150 cycli, plus tot wel twee indexbepalingen van elk tien cycli.

Voor verwachte duur en andere systeemspecificaties gaat u naar de [specificatiepagina van het MiniSeq System](#) op de website van Illumina.

Aantal cycli in een bepaling

Bij een sequencing-run is het aantal cycli dat wordt uitgevoerd in een bepaling 1 cyclus meer dan het aantal geanalyseerde cycli. Bijvoorbeeld, om een paired-end run van 150 cycli uit te voeren, moet u de run instellen om 151 cycli per bepaling uit te voeren (2 x 151) met in totaal 302 cycli. Aan het eind van de run worden 2 x 150 cycli geanalyseerd. De extra cyclus in elke bepaling wordt gebruikt voor faserings- en voorfaseringsberekeningen.

Verbruiksartikelen voorbereiden

De reagenscartridge prepareren

- 1 Neem de reagenscartridge uit de opslag bij een temperatuur van -25°C tot -15°C .
- 2 Ontdooi reagentia aan de hand van de volgende waterbadopties. Dompel de cartridge niet onder. Droog na ontdooien de onderkant af voordat u verder gaat.

Methode	Ontdooitijd	Stabiliteitslimiet
Waterbad 37°C	35 minuten	Maximaal 2 uur
Waterbad bij kamertemperatuur (19°C tot 25°C)	90 minuten	Maximaal 24 uur

Als er meerdere cartridges in hetzelfde waterbad wordt ontdooit, moet u er rekening mee houden dat het ontdooien langer duurt. Of ontdooi reagentia aan de hand van de volgende opties.

Methode	Ontdooitijd	Stabiliteitslimiet
Aan de lucht op kamertemperatuur (19°C tot 25°C)	5 uur	Maximaal 24 uur
Gekoeld bij 2°C tot 8°C	18 uur	Maximaal 72 uur

- 3 Draai de cartridge 5 maal om om de reagentia te mengen.
- 4 Inspecteer de grote reservoirs aan de onderkant van de cartridge om er zeker van te zijn dat de reagentia zijn ontdooit en dat de reservoirs geen ijskristallen meer bevatten.
- 5 Tik voorzichtig tegen de bank om eventuele luchtbellen te verwijderen.

De stroomcel prepareren

- 1 Neem een nieuwe stroomcel uit de opslag van 2°C tot 8°C .
- 2 Laat het onuitgepakte stroomcelpakket 30 minuten op kamertemperatuur staan.



OPMERKING

Vermijd herhaaldelijk afkoelen en opwarmen van de stroomcel.

- 3 Neem de stroomcelhouder uit de folieverpakking.
- 4 Trek een nieuw paar poedervrije handschoenen aan.
- 5 Pak de stroomcel bij de plastic cartridge vast en verwijder de stroomcel uit de houder.

Afbeelding 9 De stroomcel verwijderen



- 6 Reinig het glazen oppervlak van de stroomcel met een pluisvrij alcoholdoekje.
- 7 Droog af met een pluisvrij lensreinigingsdoekje. Wees voorzichtig met de zwarte stroomcelpakking.

- 8 Inspecteer de stroomcelpoorten op obstructies. Zorg dat de pakking goed op zijn plek zit.

Bibliotheken voorbereiden voor sequencing

Bibliotheken denatureren en verdunnen

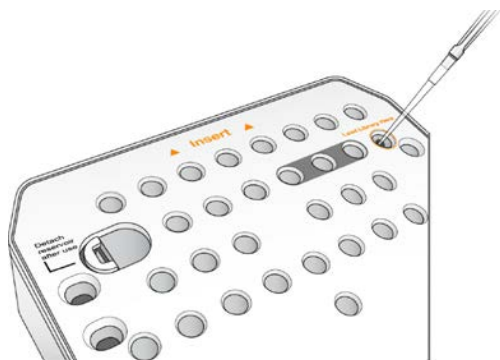
Voordat u bibliotheken op de reagenscartridge laadt, moet u de bibliotheken denatureren en verdunnen én een optionele PhiX-controle toevoegen. Raadpleeg voor meer informatie *MiniSeq System Denature and Dilute Libraries Guide (Handleiding denatureren en verdunnen bibliotheken MiniSeq-systeem)* (documentnr. 1000000002697).

Het laadvolume van het MiniSeq System is 500 µl. De laadconcentratie is 1,4 pM bij standaard kits en 1.6 pM bij snelle kits. In de praktijk kan de laadconcentratie variëren afhankelijk van de bibliotheekpreparatie en kwantificeringsmethodes.

Laad de bibliotheken op de reagenscartridge

- 1 Reinig de folieafdichting van reservoir **16** met het label **Load Library Here** (Bibliotheek hier laden) met een niet-pluizende tissue.
- 2 Prik de afdichting door met een schone pipetpunt van 1 ml.
- 3 Voeg 500 µl geprepareerde 1,4 pM of 1,6 pM bibliotheken toe aan reservoir **16**. Raak de folie niet aan bij het dispenseren van de bibliotheken.

Afbeelding 10 Bibliotheken laden



Een sequencing-run instellen

De stappen voor het instellen van de run verschillen afhankelijk van de systeemconfiguratie:

- ▶ **Standalone configuration** (Standalone configuratie) — Het systeem vraagt gebruikers runparameters aan te geven op het scherm Run Setup (Runinstellingen) van de besturingssoftware.
- ▶ **Local Run Manager configuration** (Local Run Manager-configuratie) — Selecteer uit een lijst met vooraf gedefinieerde runs in Local Run Manager. Als User Management (Gebruikersbeheer) is ingeschakeld bij de systeeminstellingen, dan zijn inloggegevens nodig. Gebruikersbeheer staat standaard uitgeschakeld.

Een run instellen (handmatige configuratie)

- 1 Selecteer in het startscherm **Sequence** (Sequencen).
De opdracht Sequence geeft de verbruiksartikelen van een eerdere run vrij en opent de reeks schermen voor runinstellingen.

- 2 Selecteer **Manual** (Handmatig) in het scherm Run Mode (Runmodus).
- 3 **Optioneel** — Selecteer **BaseSpace Sequence Hub** (BaseSpace sequentie-hub) Selecteer runbewaking en opslag of alleen runbewaking. Indien ingeschakeld, zijn inloggegevens voor BaseSpace Sequence Hub en een internetverbinding nodig.

Runparameters invoeren

- 1 Voer een runnaam naar keuze in.
- 2 **[Optioneel]** Voer een bibliotheek-ID naar keuze in.
- 3 Selecteer een bepalingstype, **Single read** (Enkele bepaling) of **Paired end** (Gekoppeld eind).
- 4 Voer het aantal cycli per bepaling in de sequencing-run in.
 - ▶ **Read 1** (Bepaling 1) — voer een waarde in tot maximaal 151 cycli.
 - ▶ **Index 1** (Index 1) — Voer een waarde in van maximaal 10 cycli voor de Index 1 (i7)-primer.
 - ▶ **Index 2** (Index 2) — Voer een waarde in van maximaal 10 cycli voor de Index 2 (i5)-primer.
 - ▶ **Read 2** (Bepaling 2) — voer een waarde in tot maximaal 151 cycli. Deze waarde is normaliter hetzelfde aantal cycli als Bepaling 1.

De besturingssoftware bevestigt het aantal gespecificeerde cycli aan de hand van de volgende criteria:

- ▶ Het totaal aantal cycli is niet hoger dan het maximaal aantal toegestane cycli op basis van de reagenscartridge die is geladen voor de run.
- ▶ Cycli voor Bepaling 1 zijn groter dan de 6 cycli die nodig zijn voor het genereren van de sjabloon.
- ▶ Cycli voor Indexbepaling overschrijden het aantal cycli voor Bepaling 1 en Bepaling 2 niet.



OPMERKING

Zorg dat u het juiste aantal cycli voor indexbepaling specificeert voor de bibliotheken die u sequencet. Raadpleeg de documentatie over bibliotheekvoorbereiding voor meer informatie.

- 5 **[Optioneel]** Als u aangepaste primers gebruikt, vink dan het selectievakje voor de gebruikte primers aan.
 - ▶ **Read 1** (Bepaling 1) — aangepaste primer voor Bepaling 1.
 - ▶ **Index 1** — aangepaste primer voor Index 1.
 - ▶ **Index 2** — aangepaste primer voor Index 2.
 - ▶ **Read 2** (Bepaling 2) — aangepaste primer voor Bepaling 2.
- 6 **[Optioneel]** Wijzig de instellingen voor de huidige run.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Verwijder verbruiksartikelen voor deze run) — Wijzig de instelling om verbruiksartikelen na de huidige run automatisch te verwijderen.
 - ▶ **Output folder** (Uitvoermap) — Wijzig de locatie van de uitvoermap voor de huidige run. Selecteer **Browse** (Bladeren) om naar een maplocatie te navigeren.
- 7 Selecteer **Next** (Volgende).



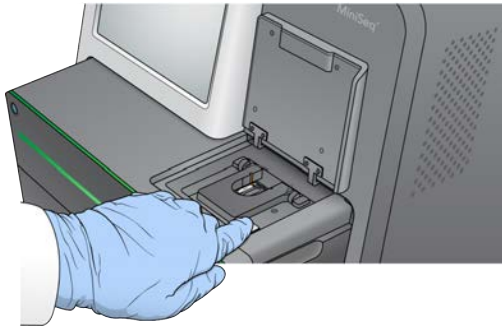
OPMERKING

Open tijdens de automatische controle of de sequencing-run niet de klep van het reagenscompartiment of het stroomcelcompartiment.

De stroomcel laden

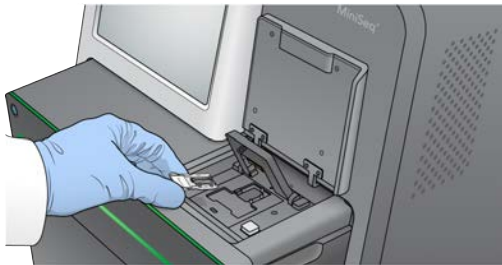
- 1 Open de klep van het stroomcelcompartiment.
- 2 Druk op de ontgrendelknop rechts van de stroomcelvergrendeling.

Afbeelding 11 De stroomcelvergrendeling openen



- 3 Verwijder de gebruikte stroomcel van een vorige run, indien aanwezig.
- 4 Controleer of het stroomcelplatform schoon is. Reinig het stroomcelplatform met een alcoholdoekje als er vuil aanwezig is.
- 5 Plaats de stroomcel boven de uitlijnpennen op het platform.

Afbeelding 12 De stroomcel op het platform laden



- 6 Sluit de stroomcelvergrendeling om de stroomcel te bevestigen.

Afbeelding 13 De stroomcelvergrendeling sluiten



- 7 Sluit de klep van het stroomcelcompartiment.

De reagenscartridge laden

- 1 Open de klep van het reagenscompartiment.
- 2 Verwijder de gebruikte reagenscartridge, indien aanwezig.

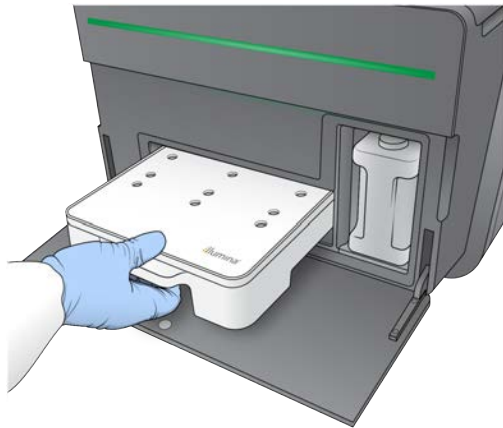


OPMERKING

Om het veilig verwijderen van ongebruikte reagens met formamide mogelijk te maken, is het reservoir in positie 9 verwijderbaar. Raadpleeg *Gebruikt reservoir uit positie 9 verwijderen* op pagina 24.

- 3 Schuif de reagenscartridge in het reagenscompartiment tot de cartridge stopt.

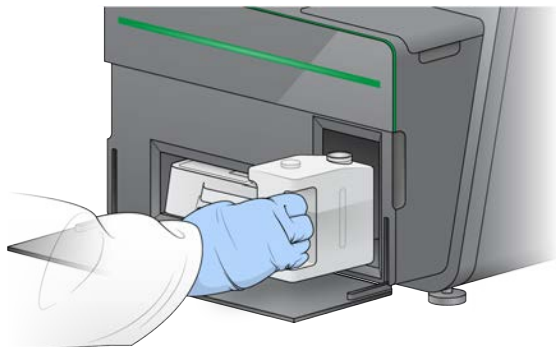
Afbeelding 14 De reagenscartridge laden



De fles voor gebruikte reagentia legen

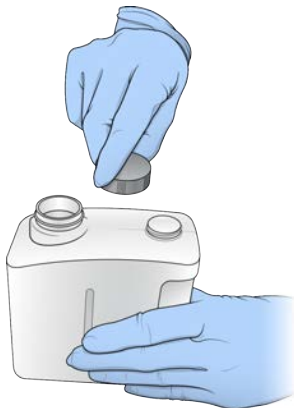
- 1 Verwijder de fles met gebruikte reagentia uit het compartiment.

Afbeelding 15 De fles met gebruikte reagentia verwijderen



- 2 Sluit de flesopening af met de schroefdop om morsen te voorkomen bij het dragen van de fles met gebruikte reagentia.

Afbeelding 16 De fles met gebruikte reagentia afsluiten



- 3 Gooi de inhoud weg in overeenstemming met de toepasselijke normen.



WAARSCHUWING

Deze set reagentia bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving. Raadpleeg voor aanvullende informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad op support.illumina.com/sds.html.

- 4 Schuif als de schroefdop is verwijderd, de lege fles voor gebruikte reagentia in het compartiment tot het niet verder kan.
- 5 Sluit de klep van het compartiment en selecteer **Next** (Volgende).

Runparameters bevestigen

- 1 Bevestig de runparameters.

De besturingssoftware bevestigt het aantal gespecificeerde cycli aan de hand van de volgende criteria:

- ▶ Het totaal aantal cycli is niet hoger dan het maximaal aantal toegestane cycli op basis van de reagenscartridge die is geladen voor de run.
- ▶ Cycli voor Bepaling 1 zijn groter dan de 6 cycli die nodig zijn voor het genereren van de sjabloon.
- ▶ Cycli voor Indexbepaling overschrijden het aantal cycli voor Bepaling 1 en Bepaling 2 niet.



OPMERKING

Zorg dat u het juiste aantal cycli voor indexbepaling specificeert voor de bibliotheken die u sequencet. Raadpleeg de documentatie over bibliotheekvoorbereiding voor meer informatie.

- 2 **[Optioneel]** Selecteer **Edit** (Wijzigen) om de runparameters aan te passen. Selecteer **Save** (Opslaan) als u klaar bent.
 - ▶ **Run parameters** (Runparameters) — Wijzig het type bepalingen of aantal cycli per bepaling.
 - ▶ **Custom primers** (Aangepaste primers) — Wijzig de instellingen voor aangepaste primers.
- 3 Selecteer **Next** (Volgende).



OPMERKING

Open tijdens de automatische controle of de sequencing-run niet de klep van het reagenscompartiment of het stroomcelcompartiment.

Pre-runcontrole beoordelen

- 1 Bekijk de resultaten van de automatische controle.
 - ▶ Selecteer **Cancel** (Annuleren) om een controle die wordt uitgevoerd, te stoppen.
 - ▶ Voor alle items die niet slagen, is een actie vereist voordat u verder kunt gaan. Raadpleeg *Automatische controle op fouten op pagina 33*.
 - ▶ Selecteer **Retry** (Opnieuw proberen) om de controle opnieuw te starten. De controle wordt hervat bij de eerste onvolledige of niet-geslaagde controle.
- 2 Start de run op een van de volgende manieren.
 - ▶ Als het systeem niet is geconfigureerd voor automatisch starten na succesvolle controle, selecteert u **Start** (Starten).

- ▶ Als het systeem is geconfigureerd voor automatisch starten na succesvolle controle, begint de sequencing-run automatisch. U hoeft daarbij niet aanwezig te zijn. Als de controle foutmeldingen oplevert, begint de run niet automatisch.

Een run instellen (Local Run Manager-configuratie)

- 1 Selecteer in het startscherm **Sequence** (Sequencen).
De opdracht Sequence geeft de verbruiksartikelen van een eerdere run vrij en opent de reeks schermen voor runinstellingen.
- 2 Selecteer vanuit het runinstellingenscherm de optie **Local Run Manager**.
- 3 **Optioneel** — Selecteer **BaseSpace Sequence Hub** (BaseSpace sequentie-hub) Selecteer runbewaking en opslag of alleen runbewaking. Indien ingeschakeld, zijn inloggegevens voor BaseSpace en een internetverbinding nodig.

Inloggen bij Local Run Manager

- 1 Voer uw gebruikersnaam en wachtwoord in.
Inloggegevens zijn niet vereist als Local Run Manager-gebruikersbeheer is uitgeschakeld.
- 2 Selecteer **Next** (Volgende).

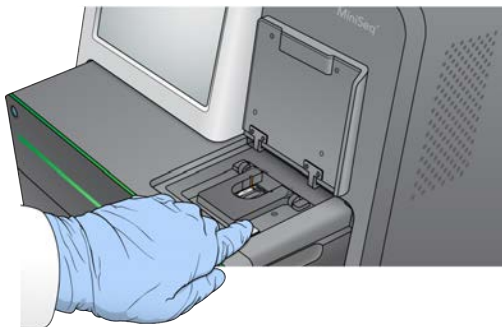
Een beschikbare run selecteren

- 1 Selecteer een runnaam uit de lijst van beschikbare runs.
Gebruik de pijlen omhoog en omlaag om de lijst door te bladeren of voer in het Search-veld (Zoeken) een runnaam in.
- 2 Selecteer **Next** (Volgende).

De stroomcel laden

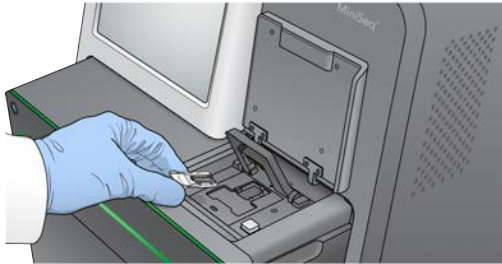
- 1 Open de klep van het stroomcelcompartiment.
- 2 Druk op de ontgrendelknop rechts van de stroomcelvergrendeling.

Afbeelding 17 De stroomcelvergrendeling openen



- 3 Verwijder de gebruikte stroomcel van een vorige run, indien aanwezig.
- 4 Controleer of het stroomcelplatform schoon is. Reinig het stroomcelplatform met een alcoholdoekje als er vuil aanwezig is.
- 5 Plaats de stroomcel boven de uitlijnpennen op het platform.

Afbeelding 18 De stroomcel op het platform laden



- 6 Sluit de stroomcelvergrendeling om de stroomcel te bevestigen.

Afbeelding 19 De stroomcelvergrendeling sluiten



- 7 Sluit de klep van het stroomcelcompartiment.

De reagenscartridge laden

- 1 Open de klep van het reagenscompartiment.
- 2 Verwijder de gebruikte reagenscartridge, indien aanwezig.

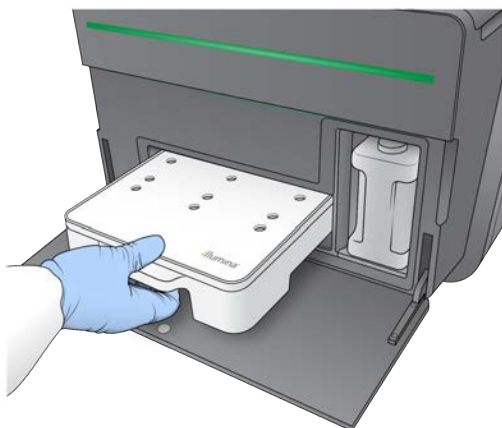


OPMERKING

Om het veilig verwijderen van ongebruikte reagens met formamide mogelijk te maken, is het reservoir in positie 9 verwijderbaar. Raadpleeg *Gebruikt reservoir uit positie 9 verwijderen op pagina 24*.

- 3 Schuif de reagenscartridge in het reagenscompartiment tot de cartridge stopt.

Afbeelding 20 De reagenscartridge laden

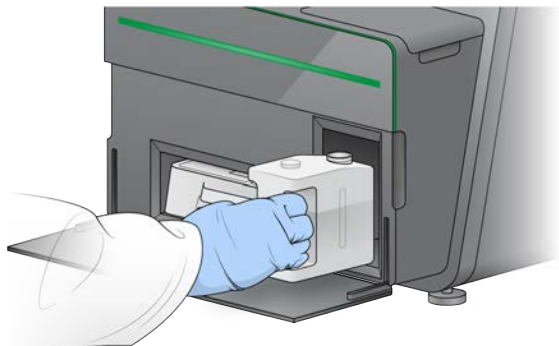


- 4 Selecteer een recept uit het vervolgkeuzemenu Recipe (Recept). Alleen compatibele recepten worden in de lijst vermeld.

De fles voor gebruikte reagentia legen

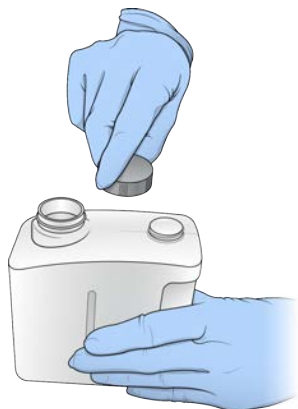
- 1 Verwijder de fles met gebruikte reagentia uit het compartiment.

Afbeelding 21 De fles met gebruikte reagentia verwijderen



- 2 Sluit de flesopening af met de schroefdop om morsen te voorkomen bij het dragen van de fles met gebruikte reagentia.

Afbeelding 22 De fles met gebruikte reagentia afsluiten



- 3 Gooi de inhoud weg in overeenstemming met de toepasselijke normen.



WAARSCHUWING

Deze set reagentia bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving. Raadpleeg voor aanvullende informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad op support.illumina.com/sds.html.

- 4 Schuif als de schroefdop is verwijderd, de lege fles voor gebruikte reagentia in het compartiment tot het niet verder kan.
- 5 Sluit de klep van het compartiment en selecteer **Next** (Volgende).

Runparameters bevestigen

- 1 Bevestig de runparameters.

De besturingssoftware bevestigt het aantal gespecificeerde cycli aan de hand van de volgende criteria:

- ▶ Het totaal aantal cycli is niet hoger dan het maximaal aantal toegestane cycli op basis van de reagenscartridge die is geladen voor de run.
- ▶ Cycli voor Bepaling 1 zijn groter dan de 6 cycli die nodig zijn voor het genereren van de sjabloon.
- ▶ Cycli voor Indexbepaling overschrijden het aantal cycli voor Bepaling 1 en Bepaling 2 niet.



OPMERKING

Zorg dat u het juiste aantal cycli voor indexbepaling specificeert voor de bibliotheken die u sequencet. Raadpleeg de documentatie over bibliotheekvoorbereiding voor meer informatie.

- 2 **[Optioneel]** Selecteer **Edit** (Wijzigen) om de runparameters aan te passen. Selecteer **Save** (Opslaan) als u klaar bent.

- ▶ **Run parameters** (Runparameters) — Wijzig het type bepalingen of aantal cycli per bepaling.
- ▶ **Custom primers** (Aangepaste primers) — Wijzig de instellingen voor aangepaste primers.

- 3 Selecteer **Next** (Volgende).



OPMERKING

Open tijdens de automatische controle of de sequencing-run niet de klep van het reagenscompartiment of het stroomcelcompartiment.

Pre-runcontrole beoordelen

- 1 Bekijk de resultaten van de automatische controle.

- ▶ Selecteer **Cancel** (Annuleren) om een controle die wordt uitgevoerd, te stoppen.
- ▶ Voor alle items die niet slagen, is een actie vereist voordat u verder kunt gaan. Raadpleeg *Automatische controle op fouten op pagina 33*.
- ▶ Selecteer **Retry** (Opnieuw proberen) om de controle opnieuw te starten. De controle wordt hervat bij de eerste onvolledige of niet-geslaagde controle.

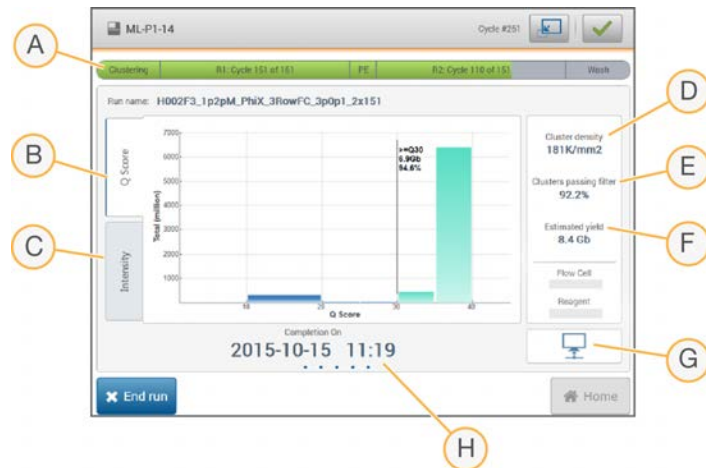
- 2 Start de run op een van de volgende manieren.

- ▶ Als het systeem niet is geconfigureerd voor automatisch starten na succesvolle controle, selecteert u **Start** (Starten).
- ▶ Als het systeem is geconfigureerd voor automatisch starten na succesvolle controle, begint de sequencing-run automatisch. U hoeft daarbij niet aanwezig te zijn. Als de controle foutmeldingen oplevert, begint de run niet automatisch.

De voortgang van de run bewaken

- 1 Monitor de voortgang van de run, de intensiteit en de kwaliteitsscores als meetwaarden die op het scherm zichtbaar zijn.

Afbeelding 23 Voortgang en meetwaarden sequencing-run



- A **Voortgang run** — Toont de huidige stap en het aantal cycli dat is voltooid voor elke bepaling. De voortgangsbalk is niet evenredig aan de runsnelheid van elke stap.
- B **Q-Score** — Toont de distributie van kwaliteitsscores (Q-scores). Raadpleeg *Kwaliteitsscore op pagina 45*.
- C **Intensity** (Intensiteit) — Toont de waarde van clusterintensiteiten van het 90^e percentiel voor elke tegel. Elke base wordt aangegeven door een plotkleur: rood is A, groen is C, blauw is G en zwart is T.
- D **Cluster density (K/mm²)** (Clusterdichtheid) — Toont het aantal clusters dat is waargenomen voor de run.
- E **Clusters passing filter (%)** (Clusters die het filter passeren) — Toont het percentage van clusters die het filter passeren. Raadpleeg *Doorlaatfilter voor clusters op pagina 45*.
- F **Estimated yield (Gb)** (Geschatte resultaat) — Toont het aantal basen dat is geprojecteerd voor de run.
- G **Data transfer status** (Gegevensoverdrachtstatus) — Toont de status van de gegevensoverdracht op basis van de analyseconfiguratie.
- H **Tijd tot voltooiing** — Toont de datum en het tijdstip waarop de run klaar is (jjjj-mm-dd uu:mm).



OPMERKING

Nadat u Home (Start) hebt geselecteerd, is het niet mogelijk om terug te keren om de meetwaarden van de run te bekijken. Meetwaarden van de run zijn beschikbaar op BaseSpace, vanaf een netwerkcomputer die de Sequencing Analysis Viewer gebruikt of vanaf een netwerkcomputer die Local Run Manager gebruikt.













Cycli voor runmeetwaarden

Runmeetwaarden verschijnen op verschillende momenten tijdens een run.

- ▶ Tijdens de stappen voor clustergeneratie verschijnen er geen meetwaarden.
- ▶ De eerste 5 cycli zijn gereserveerd voor het maken van een sjabloon.
- ▶ Bij cyclus 6 zijn ruwe clusterdichtheid en cyclus 1-intensiteiten beschikbaar.
- ▶ Na cyclus 25 zijn clusters die het filter passeren, opbrangst en kwaliteitsscores beschikbaar.

Gegevensoverdrachtstatus

Afhankelijk van de geselecteerde analyseconfiguratie verschijnt er tijdens de run een pictogram op het scherm om de verbindingstatus aan te geven.

Status	BaseSpace	Local Run Manager	Standalone
Connected (Verbonden)			
Transferring data (Gegevens aan het overdragen)			
Disconnected (Niet verbonden)			
Disabled (Uitgeschakeld)			

Het is mogelijk dat er meerdere pictogrammen op het scherm verschijnen. Als er bijvoorbeeld rungegevens worden overgedragen naar BaseSpace en een extra uitvoermaplocatie, dan verschijnen er een BaseSpace-pictogram en een pictogram voor standalone.

Universal Copy Service (Universele kopieerservice)

De softwaresuite van het MiniSeq System bevat een Universal Copy Service (universele kopieerservice). Terwijl RTA bestanden genereert, kopieert de dienst bestanden naar de gespecificeerde uitvoermaplocatie.

Als de gegevensoverdracht tijdens de run wordt onderbroken, worden de gegevens tijdelijk opgeslagen op de computer van het instrument. Wanneer de verbinding is hersteld, wordt de gegevensoverdracht automatisch hervat tijdens de run. Als de verbinding niet wordt hersteld voor het einde van de run, verplaatst de gegevens dan handmatig naar de voorkeurslocatie.

Overdragen naar BaseSpace

De Universal Copy Service draagt rungegevens over naar BaseSpace. Er worden voortdurend gegevens overgedragen van de Universal Copy Service naar BaseSpace.

Als u een extra locatie voor rungegevens specificeert, dan worden gegevens overgedragen naar die locatie, ongeacht de Universal Copy Service-status.

Automatische wassing na de run

Wanneer de sequencing-run voltooid is, initieert de software een automatische wassing na de run met de wasoplossing en de NaOCl die in de reagenscartridge zit.

De automatische wassing na een run duurt ongeveer 60 minuten. Als de wassing is voltooid, wordt de knop Home (Start) geactiveerd. Tijdens de wassing blijven de sequencingresultaten zichtbaar op het scherm.

Na de wassing

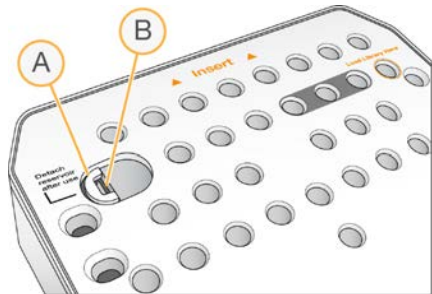
Na de wassing blijven de zuigmondjes in de omlaaggerichte positie om te voorkomen dat er lucht in het systeem komt. Laat de cartridge zitten tot de volgende run.

Gebruikt reservoir uit positie 9 verwijderen

Het reservoir in positie 9 van de reagenscartridge bevat formamide. Voordat u de gebruikte reagenscartridge verwijdert, kunt u het reservoir uit positie 9 verwijderen om dit afzonderlijk weg te gooien.

- 1 Duw met handschoenen aan op het witte losbreekclipje op positie 9 om de 3 verbindingpunten te verbreken.

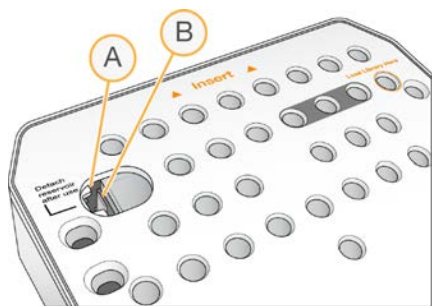
Afbeelding 24 Losbreekclipje op positie 9



- A Losbreekclipje intact weergegeven
- B Reservoirclip

- 2 Schuif het losbreekclipje opzij naar de linkerrand van de cartridge, zodat het losbreekclipje onder de afdekking van de cartridge schuift.

Afbeelding 25 Losbreekclipje verwijderd, reservoirclip blootgelegd



- A Losbreekclipje weergegeven onder de cartridge-afdekking.
- B Reservoirclip

- 3 Duw de transparante reservoirclip omlaag en naar rechts. Het reservoir komt los uit de positie onder de reagenscartridge.
- 4 Voer het reservoir af volgens de toepasselijke normen.



WAARSCHUWING

Deze set reagentia bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving. Raadpleeg voor aanvullende informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad op support.illumina.com/sds.html.

Hoofdstuk 4 Onderhoud

Inleiding	26
Een handmatige instrumentwassing uitvoeren	26
Software-updates	29

Inleiding

Onderhoudsprocedures omvatten handmatige instrumentwassingen en updates voor de systeemsoftware, indien beschikbaar. Er is geen ander periodiek onderhoud nodig.

- ▶ **Instrumentwassingen** — Een automatische wassing na elke sequencing-run zorgt ervoor dat het instrument goed blijft functioneren. Onder bepaalde omstandigheden is echter een handmatige instrumentwassing vereist. Raadpleeg *Een handmatige instrumentwassing uitvoeren op pagina 26*.
- ▶ **Software updates** — Als een nieuwe versie van de systeemsoftwaresuite beschikbaar is, dan kunt u de software automatisch updaten via een verbinding met BaseSpace of dit handmatig doen na het downloaden van het installatieprogramma van de website van Illumina. Raadpleeg *Software-updates op pagina 29*.

Preventief onderhoud

Illumina adviseert elk jaar een preventieve onderhoudsbeurt te laten uitvoeren. Als u geen servicecontract heeft afgesloten kunt u contact opnemen met de accountmanager voor uw regio of met de technische ondersteuning van Illumina om een afspraak te maken voor een preventieve onderhoudsbeurt. Voor een dergelijke onderhoudsbeurt worden kosten in rekening gebracht.

Een handmatige instrumentwassing uitvoeren

De opties voor handmatige instrumentwassing omvatten de Snelle wassing en de Handmatige wassing na de run.

Typen wassingen	Omschrijving
Quick Wash (Snelle wassing) Duur: 20 minuten	Voor elke 7 dagen dat het instrument niet is gebruikt of na uitschakeling van het instrument is een snelle wassing nodig. De wassing spoelt het systeem met een door de gebruiker geleverde wasoplossing van water van laboratoriumkwaliteit en Tween 20.
Manual Post-Run Wash (Handmatige wassing na de run) Duur: 90 minuten	Een handmatige wassing moet worden uitgevoerd als de automatische wassing na de run niet is uitgevoerd, zoals wanneer een run vroegtijdig is beëindigd en de stroomcel wordt bewaard voor latere rehybridisatie. De wassing spoelt het systeem met een door de gebruiker geleverde 0,12% natriumhypochloriet en een wasoplossing van water van laboratoriumkwaliteit en Tween 20.



OPMERKING

Gebruik altijd een verse verdunning van NaOCl die binnen de afgelopen **24 uur** is bereid. Als u meer dan 1 ml bereidt, bewaar de resterende verdunning dan bij 2°C tot 8°C voor gebruik binnen de komende 24 uur. Gooi anders de resterende verdunning van NaOCl weg.

Voor een handmatige wassing van het instrument zijn de bij het instrument geleverde wascartridge en een wasstroomcel nodig. U kunt ook een gebruikte stroomcel gebruiken voor de wassing.

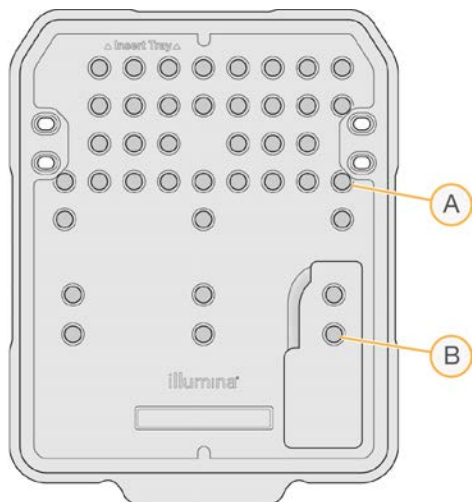
Afbeelding 26 Wascartridge



Prepareren voor een handmatige wassing na de run

- 1 Voeg de volgende volumes samen om 0,12% NaOCl te verkrijgen.
 - ▶ 5% NaOCl (31 μ l)
 - ▶ Water van laboratoriumkwaliteit (1269 μ l)
- 2 Voeg 1,3 ml van de 0,12% NaOCl toe aan de wascartridge.
Het juiste reservoir komt overeen met positie **31** van de voorgevulde reagenscartridge.

Afbeelding 27 Positie van NaOCl-wasoplossing



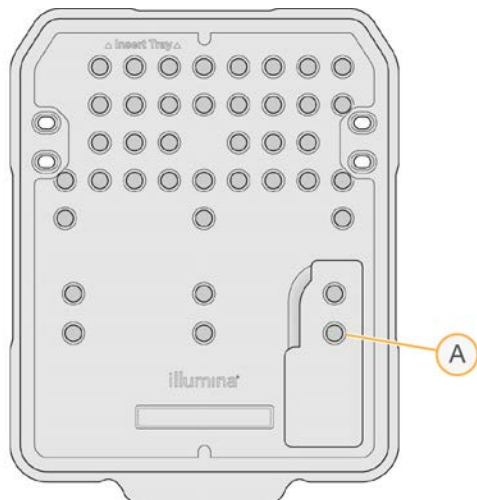
- A 0,12% NaOCl
- B Wasoplossing

- 3 Combineer de volgende volumes om een wasoplossing van 0,05% Tween 20 te verkrijgen.
 - ▶ 100% Tween 20 (40 μ l)
 - ▶ Water van laboratoriumkwaliteit (80 ml)
- 4 Voeg 80 ml wasoplossing toe aan de wascartridge.
Het juiste reservoir komt overeen met positie **40** van de voorgevulde reagenscartridge.
- 5 Selecteer **Perform Wash** (Wassing uitvoeren) vanuit het startscherm en selecteer vervolgens **Manual Post-Run Wash** (Handmatige wassing na de run).

Prepareren voor een snelle wassing

- 1 Combineer de volgende volumes om een wasoplossing van 0,05% Tween 20 te verkrijgen.
 - ▶ 100% Tween 20 (20 µl)
 - ▶ Water van laboratoriumkwaliteit (40 ml)
- 2 Voeg 40 ml wasoplossing toe aan de wascartridge.
Het juiste reservoir komt overeen met positie **40** van de voorgevulde reagenscartridge.

Afbeelding 28 Positie van wasoplossing



A Wasoplossing

- 3 Selecteer **Perform Wash** (Wassing uitvoeren) vanuit het startscherm en selecteer vervolgens **Quick Wash** (Snelle wassing).

De wasstroomcel en de wascartridge laden

- 1 Laad de wasstroomcel. Sluit de stroomcelklem en het klepje van het stroomcelcompartiment.



OPMERKING

U kunt ook een gebruikte stroomcel laden.

- 2 Verwijder de gebruikte reagenscartridge van de vorige run, indien aanwezig.
- 3 Laad de geprepareerde wascartridge.
- 4 Verwijder de fles voor gebruikte reagentia en gooi de inhoud weg volgens de geldende normen.



WAARSCHUWING

Deze set reagentia bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving. Raadpleeg voor aanvullende informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad op support.illumina.com/sds.html.

- 5 Schuif de lege fles voor gebruikte reagentia in het compartiment totdat deze niet verder kan.
- 6 Sluit de klep van het reagenscompartiment.
- 7 Selecteer **Next** (Volgende).

Start de wassing

- 1 Selecteer **Start** als de controle voltooid is.
- 2 Wanneer de wassing is voltooid, selecteert u **Home** (Start).

Na de wassing

Na de wassing blijven de zuigmondjes in de omlaaggerichte positie om te voorkomen dat er lucht in het systeem komt. Laat de cartridge zitten tot de volgende run.

Software-updates

Software-updates worden gebundeld in een softwarepakket genaamd System Suite, die de volgende software bevat:

- ▶ MiniSeq Control Software
- ▶ MiniSeq-voorschriften
- ▶ RTA2
- ▶ Local Run Manager (Lokaal runbeheer)
- ▶ MiniSeq Service Software
- ▶ Universal Copy Service (Universele kopieerservice)

Softwarerelease-opmerkingen zijn beschikbaar op de ondersteuningspagina van het MiniSeq System op de website van Illumina.

U kunt software-updates automatisch installeren via een internetverbinding of handmatig vanaf een netwerk of USB-locatie.

- ▶ **Automatic updates** (Automatische updates) — Voor instrumenten die zijn verbonden met een netwerk met toegang tot het internet verschijnt een melding -pictogram op de knop Manage Instrument (Instrument beheren) op het startscherm als er een update beschikbaar is.
- ▶ **Manual updates** (Handmatige updates) — Download het System Suite-installatiebestand van de [ondersteuningspagina van het MiniSeq System](#) op de website van Illumina.



OPMERKING

Door een update te annuleren voordat de installatie is voltooid, wordt de update op het huidige punt gestopt. Alle wijzigingen die zijn aangebracht tot het moment van annuleren worden niet gedeïnstalleerd of teruggebracht naar de vorige versie.

Automatische software-update

- 1 Selecteer **Manage Instrument** (Instrument beheren).
- 2 Selecteer **Software Update** (Software-update).
- 3 Selecteer **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Installeer de update die al van BaseSpace is gedownload).

- 4 Selecteer **Update** om de update te starten. Er wordt een dialoogvenster geopend om de opdracht te bevestigen.
- 5 Volg de instructies in de installatiewizard:
 - a Accepteer de licentieovereenkomst.
 - b Bekijk de lijst van software die in de update is inbegrepen.

Als de update voltooid is, wordt de besturingssoftware automatisch opnieuw gestart.



OPMERKING

Als er een firmware-update is inbegrepen, zal het systeem automatisch opnieuw moeten opstarten nadat de firmware is geüpdatet.

Handmatige software-update

- 1 Download de System Suite-installatiemodule van de website van Illumina en sla deze op een toegestane netwerklocatie op. Illumina raadt D:\Illumina of C:\Illumina aan. U kunt ook het software-installatiebestand kopiëren naar een draagbare USB-schijf.
- 2 Selecteer **Manage Instrument** (Instrument beheren).
- 3 Selecteer **Software Update** (Software-update).
- 4 Selecteer **Manually install the update from the following location** (De update handmatig installeren vanuit de volgende locatie).
- 5 Selecteer **Browse** (Bladeren) om te navigeren naar de locatie van het software-installatiebestand en selecteer dan **Update**.
- 6 Volg de instructies in de installatiewizard:
 - a Accepteer de licentieovereenkomst.
 - b Bekijk de lijst van software die in de update is inbegrepen.

Als de update voltooid is, wordt de besturingssoftware automatisch opnieuw gestart.



OPMERKING

Als er een firmware-update is inbegrepen, zal het systeem automatisch opnieuw moeten opstarten nadat de firmware is geüpdatet.

Softwarevereisten Rapid Kit

Het gebruik van rapid kits met het MiniSeq System vereist MiniSeq Control Software v2.1 of hoger. Er is een beheerder nodig om de update van v2.0 naar v2.1 uit te voeren. Voor installatie van MiniSeq Control Software v2.0 of hoger is Windows 10 nodig.

Bijlage A Problemen oplossen

Probleemoplossingsbestanden	32
Automatische controle op fouten	33
RTA-fouten	34
Workflow-rehybridisatie	35
Systeemcontrole	37
Netwerkconfiguratie-instellingen	39
Aangepaste genomen	40
Het instrument uitschakelen	41

Probleemoplossingsbestanden

Hoofdbestand	Map	Omschrijving
Runinformatiebestand (RunInfo.xml)	Hoofdmap	Bevat de volgende informatie: <ul style="list-style-type: none">• Naam run• Aantal cycli in de run• Aantal cycli in elke bepaling• Of de bepaling een indexbepaling is• Aantal stroken en tegels op de stroomcel
Runparametersbestand (RunParameters.xml)	Hoofdmap	Bevat informatie over runparameters en runonderdelen. De informatie omvat de RFID, het serienummer, het partijnummer en de vervaldatum.
RTA-configuratiebestand (RTAConfiguration.xml)	Gegevens\Intensiteiten	Bevat de RTA configuratie-instellingen voor de run. Het RTAConfiguration.xml-bestand wordt aangemaakt aan het begin van de run.
InterOp-bestanden (*.bin)	InterOp	Binaire rapportagebestanden gebruikt door de Sequencing Analysis Viewer. InterOp-bestanden worden gedurende de run bijgewerkt.
Logboekbestanden	Logboeken	Logboekbestanden beschrijven elke stap die voor elke cyclus door het instrument wordt uitgevoerd en geven de software- en firmwareversies weer die bij de run worden gebruikt. Het bestand met de naam [InstrumentName]_CurrentHardware.csv bevat de serienummers van de onderdelen van het instrument.
Foutlogboekbestanden (*ErrorLog*.txt)	RTA-logboekbestanden	Logboek van RTA-fouten. Foutlogboekbestanden worden bijgewerkt als er een fout optreedt.
Algemene logboekbestanden (*GlobalLog*.tsv)	RTA-logboekbestanden	Logboek van alle RTA-gebeurtenissen. Algemene logboekbestanden worden gedurende de run bijgewerkt.
Baanlogboekbestanden (*LaneLog*.txt)	RTA-logboekbestanden	Logboek van RTA-verwerkingsgebeurtenissen. Baanlogboekbestanden worden gedurende de run bijgewerkt.

Hulpbronnen voor probleemoplossing

Voor technische vragen gaat u naar de ondersteuningspagina's van het MiniSeq System op de website van Illumina. De ondersteuningspagina's bieden toegang tot documentatie, downloads en veelgestelde vragen. Log in met uw MyIllumina-account voor toegang tot ondersteuningsbulletins.

Neem voor problemen met de runkwaliteit of runprestatie contact op met de technische ondersteuning van Illumina. Zie [Technische ondersteuning op pagina 51](#).

Overweeg een link naar het runoverzicht in BaseSpace te delen met de technische ondersteuning van Illumina om te helpen bij de probleemoplossing.

Processtatus

De MiniSeq Control Software vermeldt de status van ten minste 3 runs in de tijdelijke systeemmap. Selecteer **Process status** (Processtatus) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren).

Het systeem vermeldt voor elke runnaam de status van de volgende componenten:

- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** — Gebaseerd op het verwerken van BCL-bestanden
- ▶ **Local Run Manager** — Als Local Run Manager is gebruikt voor de run
- ▶ **File Copy** (Bestandskopie) — Gebaseerd op bestandsoverdracht met de Run Copy Service
- ▶ **BaseSpace** — Als BaseSpace is gebruikt voor de run

Map 'Sequencing Archive' (Sequencingarchief)

De MiniSeq Control Software bewaart voor elke run die wordt uitgevoerd op het instrument runsamenvattingsbestanden op de systeemcomputer op D:\Illumina\MiniSeq, het sequencingarchief.

In deze map zit een submap voor elke run die is uitgevoerd op het instrument, met de volgende bestanden:

- ▶ **RunCompletionStatus.xml** — Bevat de voltooiingsstatus, runmapnaam, aantal geplande en uitgevoerde cycli, clusterdichtheid, clusters die het filter passeren en de geschatte opbrengst voor de run.
- ▶ **RunParameters.xml** — Bevat informatie over runparameters en runonderdelen. De informatie omvat de RFID, het serienummer, het partijnummer en de vervaldatum.

Automatische controle op fouten

Als er fouten optreden tijdens de automatische controle voorafgaand aan de run, gebruik dan de volgende aanbevolen acties om de fout op te lossen.

Als een pre-runcontrole mislukt, is de RFID van de reagenscartridge niet vergrendeld en kan deze voor een volgende run worden gebruikt. De RFID wordt echter vergrendeld nadat de folieverzegelingen zijn doorboord.

Systeemcontroles	Aanbevolen actie
Kleppen gesloten	Zorg ervoor dat de kleppen van het compartiment dicht zijn.
Verbruiksartikelen geladen	Sensoren voor verbruiksartikelen registreren de verbruiksartikelen niet. Zorg ervoor dat elk verbruiksartikel correct geplaatst is. Selecteer Back (Terug) in de instellingsschermen voor de run om terug te keren naar de stroomcelstap en stel de runinstellingen opnieuw in.
Vereiste software	Essentiële componenten van de software ontbreken. Voer een handmatige software-update uit om alle softwarecomponenten te herstellen.
Schijfruimte instrument	De harde schijf van het instrument beschikt niet over voldoende schijfruimte om een run uit te voeren. Wis de rungegevens van de harde schijf van het instrument.
Netwerkverbinding	De verbinding met de gespecificeerde locatie van de uitvoermap is onderbroken. Hoewel de controle gelabeld is als netwerkverbinding, controleert het systeem de verbinding met elke gespecificeerde locatie van de uitvoermap op een server, een externe harde schijf of de lokale schijf. Controleer de status van de verbinding met de gespecificeerde uitvoermaplocatie.
Ruimte netwerkschijf	De gespecificeerde locatie van de uitvoermap is vol. Hoewel de controle gelabeld is als schijfruimte, controleert het systeem elke gespecificeerde locatie van de uitvoermap op een server, een externe harde schijf of de lokale harde schijf. Maak schijfruimte vrij op de gespecificeerde uitvoermaplocatie.

Temperatuur	Aanbevolen actie
Temperatuurstijging	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Temperatuursensoren	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Ventilatoren	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Beeldvormingssysteem	Aanbevolen actie
Beperkingen in de beeldvorming	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Bewegen en stoppen Z-fases	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Bitfoutpercentage	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Stroomcelregistratie	De stroomcel zit mogelijk niet goed op zijn plaats. <ul style="list-style-type: none"> • Selecteer in het scherm Run Setup (Runinstellingen) Back (Terug) om terug te keren naar de stroomcelstap. • Verwijder de stroomcel en plaats hem opnieuw om te controleren of hij goed op zijn plaats zit.
Reagensafgifte	Aanbevolen actie
Ventielreactie	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.
Pomp	Neem contact op met de technische ondersteuning van Illumina.

Ruimte op harde schijf

De harde schijf van de instrumentcomputer kan ongeveer 45 runs bewaren op basis van gegevens gegenereerd van een run met de volgende runparameters:

- ▶ Er is ongeveer 5–6 GB ruimte nodig voor een paired-end run van 150 cycli.
- ▶ Er is nog eens 10 GB ruimte nodig voor analysebestanden bij gebruik van de Local Run Manager-analysemodule voor herhaalde sequencing.

Voor elke uitgevoerde run wordt een tijdelijke runmap aangemaakt als onderdeel van de softwarewerking. Terwijl bestanden naar de tijdelijke runmap worden geschreven, worden de bestanden gekopieerd naar de uitvoermap. U kunt daarom een uitvoermaplocatie op de harde schijf van het instrument specificeren; 2 kopieën van die run worden naar de harde schijf geschreven. De software bewaart de 3 meest recente tijdelijke runmappen.

Bij het gebruik van de Local Run Manager Software voor analyse worden tijdelijke bestanden niet standaard verwijderd. Het bewaarbeleid moet handmatig worden ingesteld op het systeeminstellingenscherm van de Local Run Manager.

Uiteindelijk kunnen de tijdelijke bestanden de ruimte op de harde schijf volledig in beslag nemen. Overweeg een netwerklocatie te gebruiken voor rungegevens en een redelijk Local Run Manager-bewaarbeleid in te stellen op basis van het aantal runs dat u uitvoert.

RTA-fouten

Controleer eerst het RTA-foutenlogboek, dat is opgeslagen in de map RTALogs (RTA-logboekbestanden), om problemen met RTA-fouten op te lossen. Dit bestand is niet aanwezig bij geslaagde runs. Voeg het foutenlogboek bij als u problemen meldt aan de technische ondersteuning van Illumina.

Foutafhandeling

RTA2 maakt logboekbestanden en schrijft deze naar de RTALogs-map. Fouten worden geregistreerd in een foutenbestand in *.tsv-bestandsindeling.

De volgende log- en foutenbestanden worden na afloop van de bewerking naar de definitieve uitvoerbepaling verzonden:

- ▶ *GlobalLog*.tsv bevat een samenvatting van de belangrijke rungebeurtenissen.
- ▶ *LaneNLog*.tsv vermeldt verwerkingsgebeurtenissen. N is altijd 1 op een MiniSeq flow cell (stroomcel).
- ▶ *Error*.tsv bevat de fouten die tijdens een run zijn opgetreden.
- ▶ *WarningLog*.tsv bevat de waarschuwingen die tijdens een run zijn opgetreden.

Workflow-rehybridisatie

Er kan een rehybridisatierun nodig zijn als meetgegevens die voor de eerste paar cycli worden gegenereerd intensiteiten onder de 2500 tonen. Bepaalde bibliotheken met lage diversiteit kunnen intensiteiten onder de 1000 tonen, dit ligt in de lijn der verwachting en kan niet worden verholpen met rehybridisatie.



OPMERKING

De opdracht End Run (Run beëindigen) is definitief. De run kan niet worden voortgezet, verbruiksartikelen voor de run kunnen niet worden hergebruikt en sequencinggegevens van de run worden niet opgeslagen.

Als u een run beëindigt en de stroomcel opslaat, dan voert de software de volgende stappen uit alvorens de run eindigt:

- ▶ Plaatst de stroomcel in een veilige staat.
- ▶ Ontgrendelt de stroomcel-RFID voor een latere run.
- ▶ Wijst een rehybridisatieverloopdatum toe aan de stroomcel.
- ▶ Schrijft de logbestanden voor de voltooide cycli van de run. Enig oponthoud is normaal.
- ▶ Omzeilt de automatische wassing na de run.

Als u een rehybridisatierun start, voert de software de volgende stappen uit om de run te doen:

- ▶ Creëert een runmap op basis van een unieke runnaam.
- ▶ Controleert dat de rehybridisatiedatum van de stroomcel niet is verlopen.
- ▶ Zet de reagentia klaar. Enig oponthoud is normaal.
- ▶ Slaat de stap voor clusteren over.
- ▶ Verwijdert de vorige Bepaling 1-primer.
- ▶ Hybridiseert een verse Bepaling 1-primer.
- ▶ Doorloopt Bepaling 1 en het restant van de run verder, op basis van de gespecificeerde parameters.

Punten om een run op te beëindigen voor rehybridisatie

Latere rehybridisatie is alleen mogelijk als u de run op de volgende punten beëindigt:

- ▶ **Na cyclus 5** — intensiteiten verschijnen na sjabloonregistratie, waarvoor de eerste 5 cycli van sequencing vereist zijn. Hoewel een run veilig kan worden beëindigd na cyclus 1, wordt beëindiging na cyclus 5 aangeraden. Beëindig een run niet tijdens clustergeneratie.

- ▶ **Read 1 or Index 1 Read** (Bepaling 1 of index 1 bepaling) — beëindig de run **voordat** gekoppeld einde resynthese begint. Nadat paired-end resynthese begint kan de stroomcel niet worden bewaard voor latere rehybridisatie.

Vereiste verbruiksartikelen

Een rehybridisatierun vereist een nieuwe MiniSeq-reagenscartridge, ongeacht op welk punt de run werd gestopt.

De huidige run beëindigen

- 1 Selecteer **End Run** (Run beëindigen). Klik op **Yes** (Ja) als u wordt gevraagd de opdracht te bevestigen.
- 2 Klik op **Yes** (Ja) als u wordt gevraagd de stroomcel te bewaren. Let op de verloopdatum voor rehybridisatie.
- 3 Verwijder de bewaarde stroomcel en zet deze weg in een omgeving van 2 °C tot 8 °C tot u klaar bent om de rehybridisatierun in te stellen.



OPMERKING

U kunt de stroomcel tot 7 dagen bewaren bij 2 °C tot 8 °C in de stroomcelhouder met de dop erop. Rehybrideer de stroomcel binnen 3 dagen voor het beste resultaat.

Een handmatige wassing uitvoeren

- 1 Selecteer **Perform Wash** (Wassing uitvoeren) vanuit het startscherm.
- 2 Selecteer **Manual Post-Run Wash** (Handmatige wassing na de run) in het Wasselectiescherm. Raadpleeg *Een handmatige instrumentwassing uitvoeren* op pagina 26.



OPMERKING

Als u de reagenscartridge nog niet hebt verwijderd uit de gestopte run, kunt u ze gebruiken voor de handmatige wassing. Voer anders de handmatige wassing uit met de wascartridge.

Een run instellen op het instrument

- 1 Prepareer een nieuwe reagenscartridge.
- 2 Als de bewaarde stroomcel in opslag was, laat deze dan eerst op kamertemperatuur komen (15-30 minuten).
- 3 Reinig en laad de bewaarde stroomcel.
Het systeem leest de RFID van de stroomcel als een opgeslagen stroomcel en bevestigt een geldige rehybridisatiedatum.
- 4 Verwijder de fles voor gebruikte reagentia, gooi de inhoud weg volgens de voorschriften en plaats dan de lege container terug.
- 5 Plaats de nieuwe reagenscartridge.
- 6 Selecteer een van de volgende opties in het scherm Run Setup (Instellingen run):
 - ▶ **Local Run Manager configuration** (Configuratie Local Run Manager) — Selecteer de run en bevestig de runparameters.
 - ▶ **Manual configuration** (Handmatige configuratie) — Vul de naam van de run in en specificeer dezelfde parameters als bij de oorspronkelijke run.

- 7 Selecteer **Next** (Volgende) om door te gaan naar de pre-runcontrole en om de run te starten.

Systemcontrole

Bij een normale werking of normaal onderhoud van het instrument is een systeemcontrole niet vereist. Een vertegenwoordiger van de technische ondersteuning van Illumina kan u echter vragen om een systeemcontrole uit te voeren in verband met het oplossen van problemen.

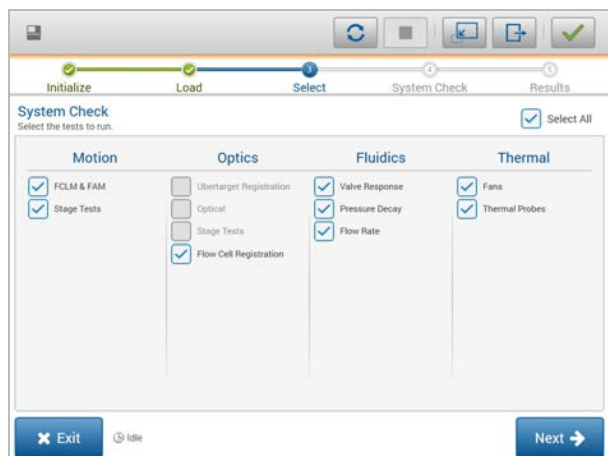


OPMERKING

Als het instrument moet worden gewassen, moet de wasbeurt worden uitgevoerd voordat met de systeemcontrole wordt gestart.

Het automatisch starten van een systeemcontrole sluit de besturingssoftware en lanceert de MiniSeq Service Software. De servicesoftware wordt gestart en opent het scherm Load (Laden), dat is geconfigureerd om de geavanceerde laadoptie te gebruiken.

Afbeelding 29 Beschikbare systeemcontroles

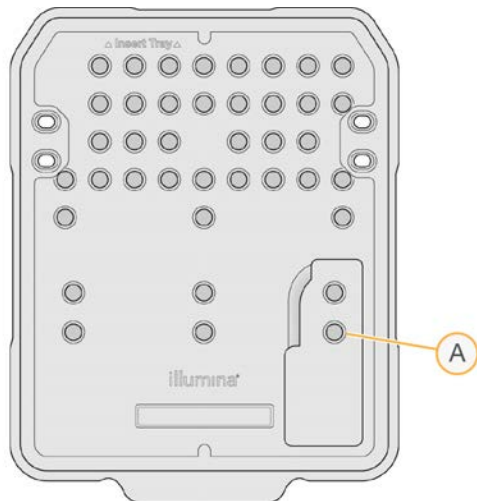


Na het laden van de verbruiksartikelen wordt het selectiescherm geopend waarop de beschikbare systeemcontroles te zien zijn. Inactieve selectievakjes op het scherm Select (Selecteren) verwijzen naar tests waarvoor ondersteuning van een vertegenwoordiger van Illumina nodig is.

Een systeemcontrole uitvoeren

- 1 Selecteer **System Check** (Systeemcontrole) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren). Selecteer **Yes** (Ja) als u wordt gevraagd de controlesoftware te sluiten.
- 2 Voeg 40 ml gedeïoniseerd water toe aan de wascartridge.
Het juiste reservoir komt overeen met positie **40** van de gevulde reagenscartridge.

Afbeelding 30 Positie van wasoplossing



A Wasoplossing

- 3 Laad de verbruiksartikelen als volgt:
 - a Plaats een gebruikte stroomcel als deze zich nog niet in het instrument bevindt.
 - b Leeg de fles voor gebruikte reagentia en zet hem terug in het instrument.
 - c Laad de wascartridge.
- 4 Selecteer **Load** (Laden).
De software brengt de stroomcel en de wascartridge in positie.
- 5 Selecteer **Next** (Volgende). De systeemcontrole gaat van start.
- 6 **[Optioneel]** Wanneer de systeemcontrole is voltooid, selecteert u **View** (Bekijken) naast de controlenaam om de bij elke controle behorende waarden te bekijken.
- 7 Selecteer **Next** (Volgende).
Het systeemcontrolerapport wordt geopend.
- 8 Selecteer **Save** (Opslaan) om het rapport op te slaan in een gecomprimeerd bestand. Navigeer naar een netwerklocatie om het bestand op te slaan.
- 9 Selecteer **Exit** (Afsluiten) als u klaar bent.
- 10 Selecteer **Yes** (Ja) als u wordt gevraagd de servicesoftware te sluiten en de besturingssoftware opnieuw op te starten.
De besturingssoftware start automatisch opnieuw op.

Bewegingscontroles

Systemcontrole	Omschrijving
FLCM en FAM	Controleert de versterking en afstand van het laadmechanisme van de stroomcel (Flow Cell Load Mechanism, FCLM) en de vloeistofautomatiseringsmodule (Fluidics Automation Module, FAM) om na te gaan of de modules naar behoren werken.
Platformtests	Controleert de eindposities en prestaties van de XY-fase en de Z-fase.

Optiekcontrole

Systemcontrole	Omschrijving
Stroomcelregistratie	Meet de helling van de stroomcel op een optisch vlak, test de camerafunctionaliteit, test de beeldvormingsmodule en controleert of de stroomcel in de juiste beeldvormingspositie is geregistreerd.

Fluidicacontroles

Systemcontrole	Omschrijving
Ventielreactie	Controleert de nauwkeurigheid van de ventiel- en pompbewegingen, en test het bewegingsbereik van de pompspuit.
Drukverval	Controleert de leksnelheid van een afgedicht fluidicasysteem, waarmee wordt bevestigd dat de stroomcel correct in de sequencingpositie is aangebracht.
Stroomsnelheid	Controleert de werking van de bubbelsensoren, die worden gebruikt om de aanwezigheid van lucht in de reagensleidingen te detecteren. Meet de stroomsnelheid om te controleren op blokkades of lekkages.

Thermische controles

Systemcontrole	Omschrijving
Ventilatoren	Controleert de snelheid van de systeemventilatoren in puls per minuut (PPM) om te bevestigen dat de ventilatoren functioneren. Ventilatoren die niet functioneren, leveren een negatieve waarde.
Thermische sondes	Controleert de gemiddelde temperatuur van elke thermische sensor. Thermische sensoren die niet functioneren, leveren een negatieve waarde.

Netwerkconfiguratie-instellingen

Netwerkinstellingen worden tijdens installatie geconfigureerd. Als het systeem opnieuw geconfigureerd moet worden, dan kunt u de instellingen wijzigen of resetten op het scherm Network Configuration (Netwerkconfiguratie). Configuratie-instellingen omvatten het IP-adres, adres domeinnaamserver (DNS) en domeinnaam.



OPMERKING

U moet zijn ingelogd als beheerder van het Windows-besturingssysteem om deze instellingen te veranderen.

Netwerkconfiguratie instellen

- 1 Selecteer **System Configuration** (Systeemconfiguratie) vanuit het scherm Manage Instrument (Instrument beheren).
- 2 Selecteer **Network Configuration** (Netwerkconfiguratie).
- 3 Selecteer **Obtain an IP address automatically** (Automatisch een IP-adres verkrijgen) om het IP-adres via de DHCP-server te verkrijgen.



OPMERKING

Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP) is een standaardnetwerkprotocol voor gebruik met IP-netwerken voor dynamische toewijzing van netwerkconfiguratieparameters.

U kunt ook **Use the following IP address** (Gebruik het volgende IP-adres) selecteren om het instrument als volgt handmatig te verbinden met een andere server. Neem contact op met uw netwerkbeheerder voor de adressen die specifiek van uw instelling zijn.

- ▶ Voer het IP-adres in. Het IP-adres is een reeks van 4 getallen gescheiden door een punt, zoals bijvoorbeeld 168.62.20.37.
- ▶ Voer het subnetmasker in, een onderverdeling van het IP-netwerk.
- ▶ Voer de standaardgateway in, de router op het netwerk die verbinding maakt met het internet.

- 4 Selecteer **Obtain a DNS server address automatically** (Automatisch een DNS-serveradres verkrijgen) om het instrument te verbinden met de domeinnaamsserver die bij het IP-adres hoort.

U kunt ook **Use the following DNS server addresses** (Gebruik de volgende DNS-serveradressen) selecteren om het instrument als volgt handmatig te verbinden met de domeinnaamsserver.

- ▶ Voer het DNS-adres in dat u wenst. Het DNS-adres is de servernaam die wordt gebruikt voor het vertalen van domeinnamen in IP-adressen.
- ▶ Voer het alternatieve DNS-adres in. Het alternatieve DNS-adres wordt gebruikt als de gewenste DNS een bepaalde domeinnaam niet kan vertalen in een IP-adres.

- 5 Selecteer **Save** (Opslaan).

Computerdomein configureren



OPMERKING

De naam van de instrumentcomputer wordt bij de fabricage aan de instrumentcomputer toegewezen. Wijzigingen in de computernaam kunnen de connectiviteit beïnvloeden en er is een netwerkbeheerder voor nodig.

- 1 Verbind de computer van het instrument als volgt met een domein of een werkgroep.
- ▶ **Voor instrumenten die zijn verbonden met het internet** — Selecteer **Member of domain** (Lid van domein) en voer vervolgens de domeinnaam in die hoort bij de internetverbinding van uw faciliteit.



OPMERKING

Voor domeinwijzigingen is de gebruikersnaam en het wachtwoord van een beheerder nodig.

- ▶ **Voor instrumenten die niet zijn verbonden met het internet** — Selecteer **Member of work group** (Lid van werkgroep) en voer vervolgens een werkgroepnaam in. De werkgroepnaam is uniek voor uw instelling

- 2 Selecteer **Save** (Opslaan).

Aangepaste genomen

U kunt uw eigen referentie in FASTA-formaat naar de instrumentcomputer uploaden. U kunt verschillende afzonderlijke FASTA-bestanden uploaden *of* één meervoudig FASTA-bestand (aanbevolen), maar niet een combinatie van beide.

Controleer of aan de volgende vereisten is voldaan om problemen met een aangepast genoombestand op te lossen.

- 1 Zorg dat het bestand een *.fa- of *.fasta-extensie gebruikt en dat het is opgeslagen in een speciale map voor de referentie.
- 2 Zorg dat de chromosoomnaam niet een van de volgende tekens bevat:

- ? () [] / \ = + < > : ; " ' , * ^ | &

Gebruik voor de beste resultaten alleen alfanumerieke tekens als chromosoomnamen.

Het instrument uitschakelen

Onder normale omstandigheden is er geen reden voor uitschakeling van het instrument.

- 1 Selecteer **Manage Instrument** (Instrument beheren).
- 2 Selecteer **Shutdown Options** (Opties voor uitschakelen).
- 3 Selecteer **Shutdown** (Uitschakelen).

Met deze opdracht wordt de software veilig afgesloten en wordt de stroom van het instrument uitgeschakeld. Wacht ten minste 60 seconden voordat u het instrument weer aan zet. Er is een wassing nodig voorafgaand aan de volgende sequencing-run.



LET OP

Verplaats het instrument *niet*. Het verkeerd verplaatsen van het instrument kan invloed hebben op de optische uitlijning en kan de gegevensintegriteit in gevaar brengen. Als u het instrument moet verplaatsen, moet u contact opnemen met een vertegenwoordiger van Illumina.

Bijlage B Real-Time Analysis

Overzicht Real-Time Analysis	42
Invoer- en uitvoerbestanden	42
Workflow Real-Time Analysis	43

Overzicht Real-Time Analysis

Real-Time Analysis is software die wordt uitgevoerd op de instrumentcomputer, intensiteiten van beelden extraheert om een basebepaling uit te voeren en vervolgens een kwaliteitsscore toewijst aan de basebepaling.

Het MiniSeq System gebruikt een implementatie van Real-Time Analysis genaamd RTA2.

De besturingssoftware van het systeem en RTA2 communiceren via een webgebaseerde HTTP-interface en gedeelde geheugenbestanden. Wanneer RTA2 wordt beëindigd, wordt de verwerking niet hervat en worden de rungegevens niet opgeslagen.

Invoer- en uitvoerbestanden

Invoerbestanden

Real-Time Analysis Software heeft de volgende invoer nodig voor verwerking:

- ▶ Tegelbeelden in een lokaal systeemgeheugen.
- ▶ **RunInfo.xml** dat automatisch aan het begin van de run wordt gegenereerd, bepaalt de runnaam, het aantal cycli, of er een bepaling is geïndexeerd en het aantal tegels op de stroomcel.

Real-Time Analysis Software ontvangt opdrachten van de besturingssoftware over de locatie van **RunInfo.xml** en of er een mogelijke uitvoermap is opgegeven.

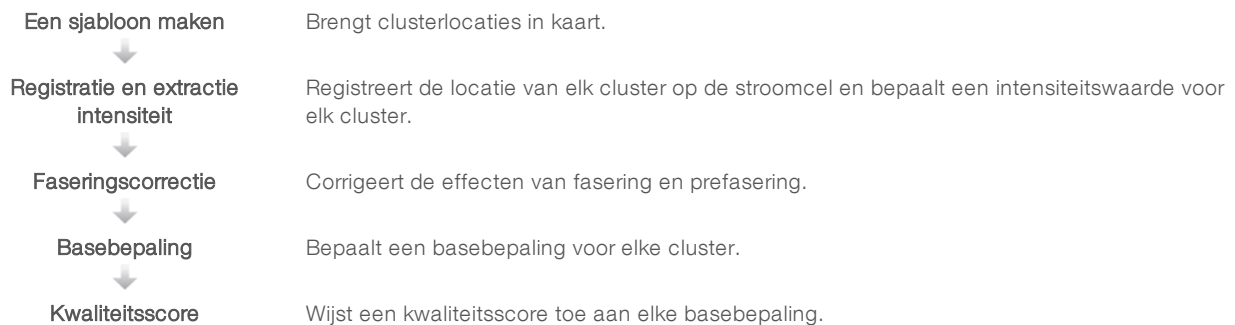
Uitvoerbestanden

Beelden voor elk kanaal worden in het geheugen aangegeven als tegels. Tegels zijn kleine beeldvormingsgebieden op de stroomcel die door de camera worden gedefinieerd als het blikveld. Op basis van deze beelden produceert de software uitvoer als een set op kwaliteit beoordeelde basebepalingsbestanden en filterbestanden. Uitvoerbestanden worden gebruikt voor stroomafwaartse analyse in BaseSpace of door Local Run Manager-analysemodules.

Bestandstype	Omschrijving
Basebepalingsbestand	Elke tegel die geanalyseerd wordt, wordt opgenomen in een samengevoegd basebepalingsbestand (*.bcl) voor elke baan en voor elke cyclus. Het samengevoegde basebepalingsbestand bevat de basebepaling en de bijbehorende kwaliteitsscore voor elk cluster in die baan.
Filterbestanden	Elke tegel produceert filterinformatie die wordt samengevoegd in 1 filterbestand (*.filter) voor elke baan. Het filterbestand specificeert of een cluster filters passeert.
Clusterlocatiebestanden	Clusterlocatie (*.locs)-bestanden bevatten de X- en Y-coördinaten voor elke cluster in een tegel. Tijdens het genereren van een sjabloon wordt voor elke baan een clusterlocatiebestand gegenereerd.
Indexbestanden basebepaling	Voor elke baan wordt een indexbestand basebepaling (*.bci) geproduceerd waarin de oorspronkelijke tegelinformatie wordt bewaard. Het indexbestand bevat een paar waarden voor elke tegel, namelijk het tegelnummer en het aantal clusters voor die tegel.

RTA2 biedt realtime meetwaarden van runkwaliteit, opgeslagen als InterOp-bestanden. InterOp-bestanden zijn een binaire uitvoer met daarin tegel-, cyclus- en bepalingsniveaumeetwaarden en worden gebruikt om realtime meetwaarden te bekijken met de Sequencing Analysis Viewer-software.

Workflow Real-Time Analysis



Een sjabloon maken

De eerste stap in de RTA-workflow is het maken van een sjabloon, waarin de positie van elk cluster in een tegel wordt gedefinieerd met behulp van X- en Y-coördinaten.

Het maken van een sjabloon vereist beeldgegevens van de eerste 5 cycli van de run. Nadat de laatste sjablooncyclus voor een tegel is afgebeeld, wordt het sjabloon gegenereerd.



OPMERKING

Om een cluster te kunnen detecteren tijdens het maken van een sjabloon, moet er ten minste 1 base anders dan G in de eerste 5 cycli zitten.

Het sjabloon wordt gebruikt als een referentie voor de volgende stap van de registratie en extractie van intensiteit. Clusterposities voor de volledige stroomcel worden naar clusterlocatiebestanden (*.locs) geschreven, 1 bestand voor elke baan.

Registratie en extractie intensiteit

Registratie en extractie intensiteit start na het maken van een sjabloon.

- ▶ Door registratie worden de beelden die tijdens elke volgende beeldvormingscyclus worden geproduceerd, uitgelijnd met het sjabloon.
- ▶ Extractie intensiteit bepaalt een intensiteitswaarde voor elk cluster in het sjabloon voor een bepaald beeld.

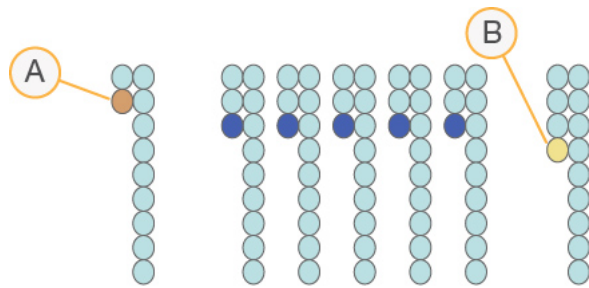
Als de registratie van een van de beelden in een cyclus mislukt, worden er geen intensiteiten geëxtraheerd en worden alle basen als N bepaald voor die tegel in die cyclus. Gebruik de Sequencing Analysis Viewer-software om tegels en cycli te identificeren waarvan de registratie mislukt is. Mislukte registraties kunnen makkelijk worden herkend als tegels en cycli met een 0 in de P90-kolom op het tablad Imaging (Beeldvorming).

Faseringscorrectie

Tijdens de sequencingreactie wordt elke DNA-streng in een cluster uitgebreid met één base per cyclus. Er is sprake van fasering en prefasering wanneer een streng tijdens de huidige opnamecyclus in de interfase komt.

- ▶ Er is sprake van fasering wanneer een base achterblijft.
- ▶ Er is sprake van prefasering wanneer een base vooruitloopt.

Afbeelding 31 Fasering en prefasering



- A Bepaling met een base die faseert
- B Bepaling met een prefaserende base

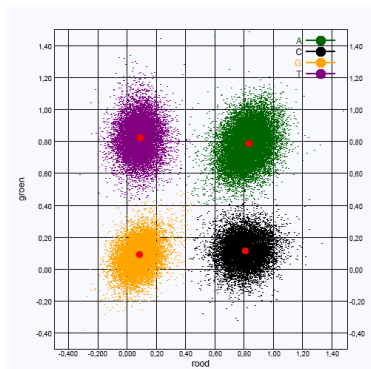
RTA2 corrigeert de effecten van fasering en prefasering, waardoor de gegevenskwaliteit tijdens elke cyclus van de run wordt gemaximaliseerd.

Basebepaling

Basebepaling bepaalt een base (A, C, G of T) voor elk cluster van een bepaalde tegel in een specifieke cyclus. Het MiniSeq System maakt gebruik van sequencing met 2 kanalen, waardoor slechts 2 beelden nodig zijn om de gegevens voor 4 DNA-basen te coderen, 1 van het rode kanaal en 1 van het groene kanaal.

Intensiteiten die worden verkregen van een beeld en vergeleken met een ander beeld resulteren in 4 afzonderlijke populaties, elk overeenkomend met een nucleotide. Het basebepalingsproces bepaalt tot welke populatie een cluster behoort.

Afbeelding 32 Visualisering van clusterintensiteiten



Tabel 1 Basebepalingen in tweekanaalssequencing

Base	Rood kanaal	Groen kanaal	Resultaat
A	1 (aan)	1 (aan)	Clusters die intensiteit in zowel het rode als het groene kanaal vertonen.
C	1 (aan)	0 (uit)	Clusters die alleen intensiteit in het rode kanaal vertonen.
G	0 (uit)	0 (uit)	Clusters die geen intensiteit vertonen op een bekende locatie.
T	0 (uit)	1 (aan)	Clusters die alleen intensiteit in het groene kanaal vertonen.

Doorlaatfilter voor clusters

Tijdens de run filtert RTA2 onbewerkte gegevens om clusters die niet voldoen aan de gegevenskwaliteitsdrempel te verwijderen.

Bij 2-kanaalsanalyse maakt RTA2 gebruik van een systeem op basis van populaties om de zuiverheid van een basebepaling vast te stellen. De clusters passeren het filter (PF) als er niet meer dan 1 basebepaling in de eerste 25 cycli een onacceptabele zuiverheidswaarde heeft. Clusters die het filter niet passeren, worden niet basebepaald in toekomstige cycli.

Indexeringsoverwegingen

De procedure voor basebepaling-indexbepalingen is anders dan voor basebepaling tijdens andere bepalingen.

Indexbepalingen moeten beginnen met ten minste één base anders dan G in een van de eerste twee cycli. Als een indexbepaling begint met twee basebepalingen van G, wordt er geen signaalintensiteit gegenereerd. Er moet een signaal aanwezig zijn in één van de eerste twee cycli om demultiplexprestatie te garanderen.

Om de kracht van demultiplexing te vergroten, moet u indexsequenties selecteren die signaal bieden in ten minste één kanaal, bij voorkeur beide kanalen, voor elke cyclus. Door deze richtlijn te volgen worden indexcombinaties vermeden die resulteren in uitsluitend G-basen in een cyclus.

- ▶ Rood kanaal: A of C
- ▶ Groen kanaal: A of T

Dit basebepalingsproces garandeert nauwkeurigheid bij het analyseren van low-plexmonsters.

Kwaliteitsscore

Een kwaliteitsscore, of Q-score, is een voorspelling van de kans op een onjuiste basebepaling. Een hogere Q-score duidt erop dat een basebepaling van een hogere kwaliteit is en daardoor waarschijnlijk juist is.

De Q-score is een compacte manier om een kleine kans op fouten te communiceren. $Q(X)$ verwijst naar kwaliteitsscores waarbij X de score is. De volgende tabel toont de relatie tussen de kwaliteitsscore en de foutenkans.

Q-score $Q(X)$	Foutenkans
Q40	0,0001 (1 op 10.000)
Q30	0,001 (1 op 1.000)
Q20	0,01 (1 op 100)
Q10	0,1 (1 op 10)



OPMERKING

De kwaliteitsscore is gebaseerd op een aangepaste versie van het Phred-algoritme.

Voor de kwaliteitsscore wordt voor elke basebepaling een set voorspellers berekend en worden vervolgens de voorspellende waarden gebruikt om de Q-score in een kwaliteitstabel op te zoeken. De kwaliteitstabellen zijn opgesteld om optimaal nauwkeurige kwaliteitsvoorspellingen te doen voor runs die zijn gegenereerd door middel van een specifieke configuratie van sequencingplatform en chemieversie.

Na bepaling van de Q-score worden de resultaten in de basebepalingsbestanden geregistreerd.

Bijlage C Uitvoerbestanden

Uitvoerbestanden


















Sequencinguitvoerbestanden	46
Structuur uitvoermap sequencing	47
Vereisten analyse-inputbestand	47

Sequencinguitvoerbestanden

Bestandstype	Bestandsbeschrijving, locatie en naam
Basebepalingsbestanden	Elke geanalyseerde tegel wordt opgenomen in een basebepalingsbestand, samengevoegd in een bestand voor elke cyclus. Het samengevoegde bestand bevat de basebepaling en de gecodeerde kwaliteitsscore voor elk cluster. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [Cycle].bcl.bgzf, waarbij [Cycle] het cyclusnummer in 4 cijfers weergeeft. Basebepalingsbestanden worden gecomprimeerd met een block gzip-compressie.
Indexbestand basebepaling	Een binair indexbestand vermeldt de oorspronkelijke tegelinformatie in een paar waarden voor elke tegel, namelijk het tegelnummer en het aantal clusters voor de tegel. De indexbestanden van de basebepalingen worden aangemaakt wanneer voor het eerst een basebepalingsbestand wordt aangemaakt. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[Lane].bci
Clusterlocatiebestanden	Bij elke tegel worden de XY-coördinaten voor elk cluster samengevoegd in een clusterlocatiebestand. Clusterlocatiebestanden zijn het resultaat van het maken van een sjabloon. Data\Intensities\L001 s_[lane].locs
Filterbestanden	Het filterbestand specificeert of een cluster filters is gepasseerd. Filtergegevens worden voor elke bepaling samengevoegd in een filterbestand. Filterbestanden worden bij cyclus 26 gegenereerd op basis van gegevens van 25 cycli. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane].filter
InterOp-bestanden	Binaire rapportagebestanden gebruikt door de Sequencing Analysis Viewer. InterOp-bestanden worden gedurende de run bijgewerkt. InterOp-map
RTA-configuratiebestand	Het RTA-configuratiebestand, dat aan het begin van de run wordt aangemaakt, bevat de instellingen voor de run. [Root-map], RTAConfiguration.xml
Runinformatiebestand	Vermeldt de runnaam, het aantal cycli in elke bepaling, of de bepaling een Index Read (indexbepaling) is, alsmede het aantal stroken en tegels op de stroomcel. Het runinfobestand wordt aangemaakt aan het begin van de run. [Root folder], RunInfo.xml

Structuur uitvoermap sequencing

De besturingssoftware genereert automatisch de naam voor het uitvoerbestand.

-  **Configs (Configuraties)**
 -  **Data (Gegevens)**
 -  **Intensities (Intensiteiten)**
 -  **BaseCalls**
 -  **L001** — Basebepalingsbestanden, samengevoegd per cyclus
 -  **L001** — Een samengevoegd *.locs-bestand
 -  **Images (Afbeeldingen)**
 -  **Focus**
 -  **L001** — Focusbeelden
-  **InstrumentAnalyticsLogs** — Logbestanden die de analysestappen van het instrument beschrijven
-  **InterOp** — Binaire bestanden gebruikt door de Sequencing Analysis Viewer
-  **Logs** — Logbestanden die de stappen van de uitvoering beschrijven
-  **Recipe** — Runspecifiek voorschriftbestand met de naam van de reagenscartridge-ID
-  **RTALogs** — Logbestanden die de analysestappen beschrijven
-  RTAComplete.xml
-  RTAConfiguration.xml
-  RunInfo.xml
-  RunNotes.xml
-  RunParameters.xml

Vereisten analyse-inputbestand

Local Run Manager vereist dat de volgende bestanden worden gegenereerd tijdens de sequencing-run om een analyse uit te voeren of een analyse opnieuw uit te voeren. Sommige analysemodules vereisen extra invoerbestanden om een analyse uit te voeren. Raadpleeg voor meer informatie de workflowhandleiding van de analysemodule die u gebruikt.

Bestandsnaam/-type	Omschrijving
RTAComplete.txt	Een markerbestand dat aangeeft dat RTA-verwerking voltooid is. De aanwezigheid van dit bestand activeert het opnieuw uitvoeren van een analyse door Local Run Manager.
RunInfo.xml	Bevat run-informatie van hoog niveau, zoals het aantal bepalingen en cycli in de sequencing-run, en of een bepaling geïndexeerd is.
Basebepalingsbestanden (*.bcl)	Bevat de basebepaling en gecodeerde kwaliteitsscore voor elk cluster voor elke tegel, samengevoegd in een bestand voor elke cyclus.
Filterbestanden (*.filter)	Specificeert of een cluster door filters is gekomen. Filtergegevens worden voor elke bepaling samengevoegd in een filterbestand.
Clusterlocatiebestanden (*.locs)	Bevat de XY-coördinaten voor elk cluster voor elke tegel, samengevoegd in een clusterlocatiebestand.

Index

A

- aan-uitknop 4, 8
- aan-uitschakelaar 8
- analyses
 - software 4
- analyse
 - uitvoerbestanden 46
- analyse, primair
 - signaalkuisheid 45
- analyseconfiguratie 14

B

- basebepaling
 - 2 kanalen 44
 - indexeringsoverwegingen 45
- BaseSpace 1
 - overdrachtspictogrammen 23
- beeldvorming met 2 kanalen 44
- beeldvorming, tweekanaalssequencing 44
- beeldvormingscompartiment 2
- bepalingscycli 12
- bepalingslengte 12
- bestanden voor basebepaling 46
- besturingssoftware 4

C

- clusterlocatie
 - bestanden 46
 - een sjabloon maken 43
- clusters die de filter passeren 45
- compatibiliteit
 - RFID-tracering 5
 - RFID-tracking 6
 - stroomcel, reagenscartridge 5
- componenten
 - beeldvormingscompartiment 2
 - reagenscompartiment 2
 - statusbalk 2
 - stroomcelcompartiment 2
- configuratie-instellingen 39

D

- databases, vooraf geïnstalleerd 7
- dbSNP-database 7
- documentatie 1, 51

- door de gebruiker geleverde
 - verbruiksartikelen 11
- doorlaatfilter (PF) 45

E

- een sjabloon maken 43

F

- faseren 43
- filterbestanden 46
- formamide, positie 6 25
- fouten
 - kans 45
- fouten en waarschuwingen 4
 - in uitvoerbestanden 35
- fouten pre-runcontrole 33

G

- geavanceerde laadoptie 9
- gebruikersnaam en wachtwoord 8
- gebruikersnaam en wachtwoord systeem 8
- gebruikte reagentia
 - weggooien 17, 21, 28
- gegevensoverdracht
 - activiteitspictogrammen 23
 - universal copy service 24

H

- handmatige configuratie 15
- het instrument uitschakelen 41
- hulp, technisch 51

I

- indexeringsoverwegingen 45
- instrument
 - aan-uitknop 4
 - configuratie-instellingen 39
 - opstarten 8
- instrument beheren
 - uitschakelen 41
- instrumentwassing 26
- intensiteiten 44
- InterOp-bestanden 32, 46

K

klantenondersteuning 51
kuisheidsfilter 45
kwaliteitstabellen 45

L

Local Run Manager 4
locs-bestanden 46
logbestanden
 GlobalLog 35
logboekbestanden
 BaanNLog 35

M

maplocatie 15
meetgegevens
 clusterdichtheidscycli 23
 intensiteitscycli 23
meetwaarden
 basebepaling 44
miRbase-database 7

N

natriumhypochloriet, wassing 27

O

onderhoud instrument
 verbruiksartikelen 11
onderhoud, preventief 26
ondersteuningspagina's 1

P

Phred-algoritme 45
pictogrammen
 fouten en waarschuwingen 4
 status 4
pre-runcontrole 18, 22
prefaseren 43
preventief onderhoud 26
primer-rehybridisatie 35
probleemoplossing
 contactopties 32
 lage kwaliteit meetgegevens 35

pre-runcontrole 33
ruimte harde schijf 34
problemen oplossen
 runspecifieke bestanden 32
 systeemcontrole 37

Q

Q-scores 45

R

reagenscartridge
 overzicht 6
 preparatie 13
 reservoir pos. 28 27
reagenscompartiment 2
reagentia
 goed weggooien 16, 20
 kit 5
Real-Time Analysis Software 1, 4
 resultaten 46
referentiegenomen
 aangepaste genomen 40
 bestandsopmaak 7
 vooraf geïnstalleerd 7
RefGen-database 7
rehybridisatie, Bepaling 1 35
richtlijnen voor water van
 laboratoriumkwaliteit 11
RTA v2
 beëindiging 42
 overzicht 42
RTA2
 foutafhandeling 35
ruimte harde schijf 34
ronduur 12
RunInfo.xml 32, 46
runinstallatie, geavanceerde optie 9
runmeetgegevens 22
runparameters
 handmatige modus 15

S

Sequencing Analysis Viewer 12
sequencing workflow 43
software
 analyse 4
 automatische update 29

- beeldanalyse, basebepaling 4
- configuratie-instellingen 39
- controleren op update 10
- handmatige update 30
- initialisatie 8
- instrumentbesturing 4
 - ronduur 12
- statusbalk 2
- statusmeldingen 4
- stroomcel
 - overzicht 5
 - rehybridisatie 35
 - types 1
 - voorbereiding 13
- stroomcelcompartiment 2
- stroomcelklem 2
- systeemcontrole 37

T

- technische ondersteuning 51
- training 1

U

- uitvoerbestanden 46
- uitvoerbestanden, sequencing 46
- universal copy service 24
- updaten van software 29

V

- verbruiksartikelen 5
 - door de gebruiker geleverd 11
 - onderhoud instrument 11
 - reagenscartridge 6
 - sequencing-runs 11
 - stroomcel 5
 - wassing verbruiksartikelen 26-27
 - water van laboratoriumkwaliteit 11
- verbruiksartikelen die door de gebruiker moeten worden geleverd 11
- verbruiksartikelen verwijderen 9

W

- wassen
 - automatisch 24
- wassen na de run 24

- wassing
 - door de gebruiker geleverde verbruiksartikelen 26
 - handmatige wassing 26
 - wassing componenten 26
- workflow
 - analyseconfiguratie 14
 - geavanceerde laadoptie 9
 - gebruikte reagentia 17, 21
 - handmatige modus 15
 - indexeringsoverwegingen 45
 - natriumhypochloriet 27
 - pre-runcontrole 18, 22
 - reagenscartridge 13, 16, 20
 - ronduur 12
 - runmeetgegevens 22
 - sequencing 43

Technische ondersteuning

Voor technische ondersteuning neemt u contact op met de afdeling technische ondersteuning van Illumina.

Website: www.illumina.com
E-mail: techsupport@illumina.com

Telefoonnummers van klantenondersteuning van Illumina

Regio	Gratis telefoonnummer	Regionaal telefoonnummer
Noord-Amerika	+1 800 809 4566	
Australië	+1.800.775.688	
België	+32 80077160	+32 34002973
China	400.066.5835	
Denemarken	+45 80820183	+45 89871156
Duitsland	+49 8001014940	+49 8938035677
Finland	+358 800918363	+358 974790110
Frankrijk	+33 805102193	+33 170770446
Hongkong, China	800960230	
Ierland	+353 1800936608	+353 016950506
Italië	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800 111 5011	
Nederland	+31 8000222493	+31 207132960
Nieuw-Zeeland	0800 451 650	
Noorwegen	+47 800 16836	+47 21939693
Oostenrijk	+43 800006249	+43 19286540
Singapore	+1.800.579.2745	
Spanje	+34 911899417	+34 800300143
Taiwan, China	00806651752	
Verenigd Koninkrijk	+44 8000126019	+44 2073057197
Zuid-Korea	+82 80 234 5300	
Zweden	+46 850619671	+46 200883979
Zwitserland	+41 565800000	+41 800200442
Overige landen	+44 1799 534 000	

Veiligheidsinformatiebladen (SDS, safety data sheets) – zijn verkrijgbaar op de website van Illumina via support.illumina.com/sds.html.

Productdocumentatie – beschikbaar voor downloaden in pdf-vorm via support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, Californië 92122 VS

+1 800 809 ILMN (4566)

+1 858 202 4566 (buiten Noord-Amerika)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

**Uitsluitend bedoeld voor onderzoekdoeleinden.
Niet voor gebruik in diagnostische procedures.**

© 2021 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.

illumina[®]