

MiSeqDx-instrument

Reference Guide for MOS v4 (Oversigtsvejledning til MOS v4)

Dette dokument og dets indhold er ophavsretligt beskyttet af Illumina, Inc. og dets datterselskaber ("Illumina") og er udelukkende beregnet til kundens kontraktmæssige brug i forbindelse med anvendelsen af det produkt eller de produkter, som er beskrevet heri, og til intet andet formål. Dette dokument og dets indhold må ikke bruges eller distribueres til noget andet formål og/eller på anden måde kommunikeres, offentliggøres eller reproduceres på nogen som helst måde uden forudgående skriftligt samtykke fra Illumina. Med dette dokument udsteder Illumina ingen licens under sit patent, varemærke, sin copyright eller sædvaneret eller lignende rettigheder for nogen tredjeparter.

Softwaren er givet i licens til dig i henhold til vilkårene og betingelserne i Illumina Sequencing Software License Agreement i et separat dokument. Hvis du ikke accepterer vilkårene og betingelserne heri, giver Illumina ikke softwaren til dig i licens, og du må ikke bruge eller installere softwaren

Instruktionerne i dette dokument skal følges nøje og fuldstændigt af kvalificerede og behørigt uddannede medarbejdere for at sikre, at det produkt eller de produkter, der er beskrevet heri, anvendes korrekt og sikkert. Alt indhold i dette dokument skal læses grundigt og forstås inden brug af produktet/produkterne.

HVIS INSTRUKTIONERNE HERI IKKE LÆSES GRUNDIGT ELLER FØLGES FULDSTÆNDIGT, KAN DET MEDFØRE SKADER PÅ PRODUKTET/PRODUKTERNE, SKADER PÅ PERSONER, HERUNDER BRUGERE ELLER ANDRE, SAMT SKADE PÅ ANDRE GENSTANDE.

ILLUMINA PÅTAGER SIG INTET ANSVAR SOM FØLGE AF FORKERT BRUG AF DE PRODUKTER, DER ER BESKREVET HERI (HERUNDER DELE HERAF ELLER SOFTWARE), ELLER NOGEN BRUG AF SÅDANNE PRODUKTER UDEN FOR OMFANGET AF DE UDTRYKKELEGE SKRIFTLIGE LICENSER ELLER TILLADELSER GIVET AF ILLUMINA I FORBINDELSE MED KUNDENS KØB AF SÅDANNE PRODUKTER.

© 2021 Illumina, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

Alle varemærker tilhører Illumina, Inc. eller de respektive ejere. Specifikke varemærkeoplysninger er tilgængelige på www.illumina.com/company/legal.html.

Denne software indeholder SeqAn-biblioteket, som er givet i licens til Illumina og distribueres under følgende licens:

Copyright © 2010, Knut Reinert, FU Berlin. Alle rettigheder forbeholdes. Videredistribution og brug i kilde og binære former med eller uden ændringer er tilladt under forudsætning af, at følgende betingelser er opfyldt:

Ovenstående copyright-meddelelse, denne liste over betingelser og følgende ansvarsfraskrivelse skal bevares ved videredistribution af kildekoden.

Ovenstående copyright-meddelelse, denne liste over betingelser og følgende ansvarsfraskrivelse i dokumentationen og/eller andet materiale, der leveres med distributionen, skal gengives ved videredistribution i binær form.

Hverken navnet FU Berlin, Knut Reinert eller navnene på dennes bidragydere må bruges til at støtte eller promovere produkter afledt af denne software uden specifik forudgående skriftlig tilladelse.

DENNE SOFTWARE LEVERES AF OPHAVSRETSINDEHAVERNE OG BIDRAGERNE "SOM DEN ER", OG ENHVER UDTRYKKELEGE ELLER UNDERFORSTÅET GARANTI, HERUNDER, MEN IKKE BEGRÆNSET TIL, DE UNDERFORSTÅEDE GARANTIER OM SALGBARHED OG EGNETHED TIL ET BESTEMT FORMÅL, FRASKRIVES. OPHAVSRETSINDEHAVEREN ELLER BIDRAGERNE KAN UNDER INGEN OMSTÆNDIGHEDER HOLDES ANSVARLIGE FOR NOGEN DIREKTE, INDIREKTE, HÆNDELIGE, SÆRLIGE, EKSEMPLARISKE SKADER ELLER FØLGESKADER (HERUNDER, MEN IKKE BEGRÆNSET TIL, KØB AF ERSTATNINGSSERVICE ELLER -VARER, DATA, TAB ELLER AFBRYDELSE AF AKTIVITETER), UANSET ÅRSAGEN OG ENHVER TEORI OM ANSVAR, HVADENTEN DET ER KONTRAKTLIGT ANSVAR, OBJEKTIVT ANSVAR ELLER SKADEVOLDENDE HANDLING (HERUNDER UAGTSOMHED ELLER ANDET), DER OPSTÅR PÅ NOGEN MÅDE VED BRUG AF DENNE SOFTWARE, UANSET OM DER ER GJORT OPMÆRKSOM PÅ MULIGHEDEN FOR SÅDANNE SKADER.

Revisionshistorik

Dokumentnr.	Dato	Beskrivelse af ændring
Dokumentnr. 1000000157953 v00	November 2021	Oprindelig udgivelse til støtte for OS v4.0 og Local Run Manager v3.0.

Indholdsfortegnelse

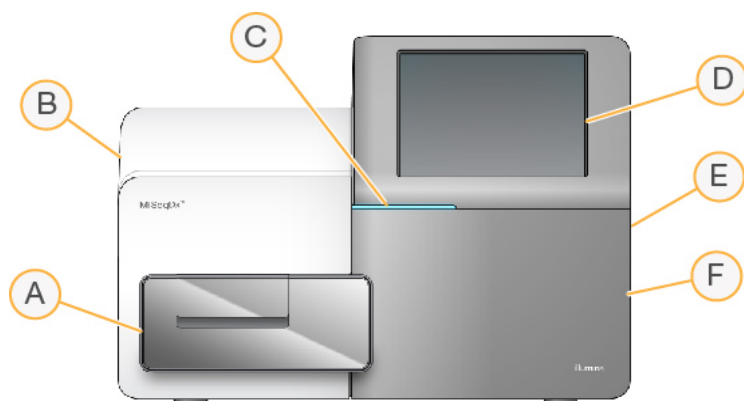
Revisionshistorik	iii
Oversigt	1
Komponenter	1
MiSeqDx-software	3
Software Local Run Manager	5
Påkrævet diskplads	5
Politikker for softwarebegrænsning	6
Antivirussoftware	6
Sekventeringstilstand	6
Sådan kommer du i gang	8
Start af MiSeqDx	8
Valg af indstillingen for vask efter kørsel	8
Vælg indstillingen Automatic Start Run (Start automatisk kørsel)	9
Aktivér Illumina Proactive Support	9
Angivelse af e-mailpræferencer	9
Angivelse af standardplacering for outputmappen	10
Nødvendige materialer	10
Opbevaring og håndtering	11
Sekventering	12
Introduktion	12
Kørselsvarighed	12
Clustergenerering	12
Sekventering	12
Analyse	12
Klargøring af reagenskassetten	13
Log ind og følg sekventeringsmeddelelserne	14
Rengør flowcellen	15
Overførsel af flowcellen	16
Overfør reagenser	18
Overvåg kørslen	21
Foretag en vask efter kørslen	23
Vedligeholdelse	28
Vedligeholdelsesfrekvens	28

Forebyggende vedligeholdelse	28
Foretag en vedligeholdelsesvask	28
Foretag en standby-vask	31
Nedlukning af instrumentet	33
Fejlfinding	35
Introduktion	35
Saml logs til fejlfinding	35
Gennemførelse af systemkontrol	36
Stop en kørsel, eller sæt den på pause	36
Hæv reagenskassetens sugerør manuelt	37
Løs kørselskonfigurationsfejl	37
Løs RFID-læsningsfejl	38
Undgå genstarter under en kørsel	40
Foretag fejlfinding af strømningshastighedsfejl	40
Foretag en volumetest	41
Løs temperaturfejl i reagenskøleren	42
Løs analysefejl i Local Run Manager	42
Konfigurer systemindstillinger	42
Outputmapper	45
Kørselsmapper	45
Indeks	46
Teknisk hjælp	49

Oversigt

Komponenter

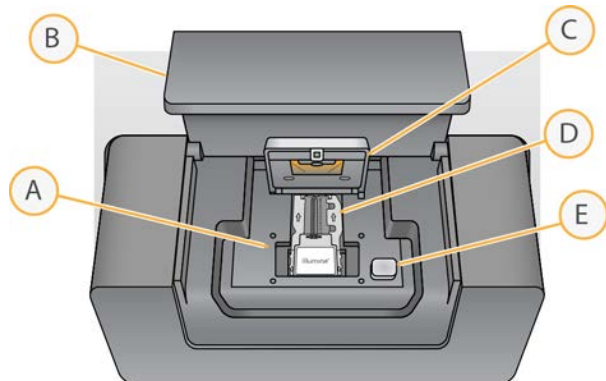
MiSeqDx har følgende udvendige komponenter:



- A. **Flowcellekammer** – Indeholder flowcelleholderen, der indeholder flowcellen under hele kørslen. Flowcelleholderens motorer flytter holderen ud af det medfølgende optiske modul for at overføre flowcellen og returnerer holderen, når kørslen begynder.
- B. **Medfølgende optisk modul** – Indeholder optiske komponenter, som muliggør flowcellens billedoptagelse.
- C. **Statuslinje** – Viser flowcellens status som klar til sekventering (grøn), arbejder (blå) eller brug for opmærksomhed (orange).
- D. **Touchskærm** – Viser kontrolsoftwarens interface til system- og kørselskonfiguration.
- E. **Ekstern USB-port** – Muliggør overførsel af filer og data til instrumentcomputeren fra touchskærmen.
- F. **Reagenskammer** – Indeholder reagenser ved passende temperaturer, vaskeopløsninger og en flaske til brugte reagenser. En magnetisk låsemekanisme låser døren til reagenskammeret.

MiSeqDx-interfacet guider dig gennem trinene i kørselskonfigurationen ved hjælp af touchskærmen. Overførsel af kørsels-komponenter kræver adgang til reagenskammeret og flowcellekammeret.

Flowcellekammer

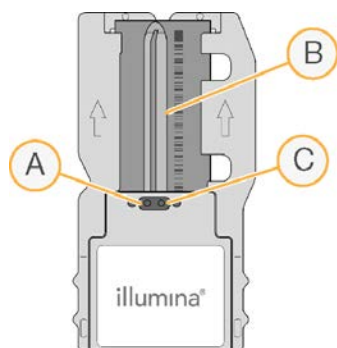


- A. Flowcelleholder
- B. Flowcellekammerdør
- C. Flowcellelås
- D. Flowcelle
- E. Udløserknap til flowcellelåsen

Flowcellekammeret indeholder flowcelleholderen, en termisk station og fluidikforbindelser til flowcellen. Flowcelleholderen holder flowcellen, og flowcellelåsen beskytter og positionerer flowcellen. Når flowcellelåsen lukkes, positioneres flowcellen automatisk af to stifter i nærheden af låsens hængsler.

Den termiske station, som er placeret under flowcelleholderen, kontrollerer ændringer i flowcelletemperaturen, som kræves til clustergenerering og sekventering.

Flowcelle



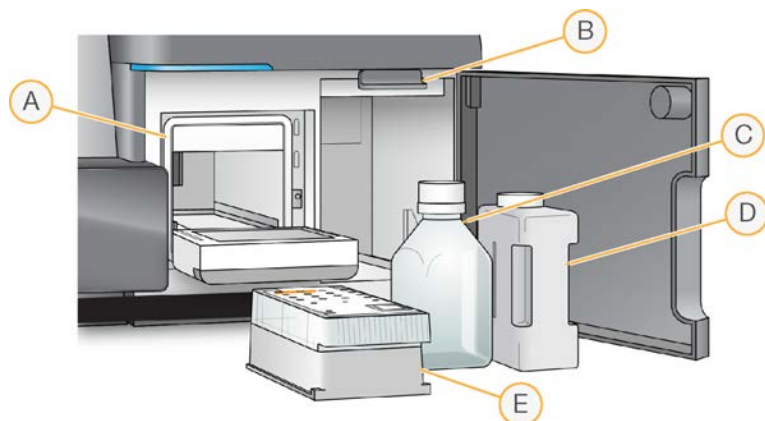
- A. Udløbsport
- B. Billedoptagelsesområde
- C. Indløbsport

MiSeqDx-flowcellen er et glasbaseret substrat til engangsbrug, hvorpå clustrene genereres, og sekventeringsreaktionen udføres.

Reagenser kommer ind i flowcellen gennem indløbsporten, passerer gennem billedoptagelsesområdet med en enkelt bane og forlader flowcellen gennem udløbsporten. Affald, som forlader flowcellen, leveres til affaldsflasken.

Under sekventeringskørslen vises den enkelte bane i små billedområder kaldet felter.

Reagenskammer



- A. Reagenskøler
- B. Håndtag på sugerør (vist i hævet position)
- C. Flaske med MiSeqDx SBS Solution (PR2)
- D. Affaldsflaske
- E. Reagenskassette

Reagenskammeret indeholder reagenskøleren og positioner for flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2) og affaldsflasken.

Under kørslen rummer reagenskøleren en reagenskassette til engangsbrug. Under instrumentvasken rummer reagenskøleren vaskebakken. Softwaren sænker automatisk sugerørene ned i hvert reservoir i reagenskassetten på det passende tidspunkt under en kørsel, afhængigt af den proces, der udføres.

Til højre for reagenskøleren er der to formmonterede sprækker, en til flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2) og en til affaldsflasken. Håndtaget til sugerørene låser flaskerne på plads og sænker det passende sugerør ned i hver flaske.

Reagenser pumpes gennem sugerørene og fluidikledningerne og derefter til flowcellen. Under hele processen føres reagensaffald til affaldsflasken.

MiSeqDx-software

Instrumentets softwarepakke inkluderer integrerede programmer, som udfører sekventeringskørsler og analyser på instrumentet og relaterede funktioner.




- **MiSeq Operating Software (MOS)** – Styrer instrumentets funktion. Brugergrænsefladen i MiSeq Operating Software (MOS) guider dig igennem trinnene med isætning af flowcellen og påfyldning af reagenserne. Der vises en oversigt over kvalitetsstatistik under kørslen. Softwaren installeres og kører på instrumentet.
- Under kørslen styrer MOS flowcelleholderen, påfylder reagenser, kontrollerer flowcellens temperaturer og tager billeder af clustrene på flowcellen. MOS udfører kørslen i henhold til de parametre, du har angivet i softwaren Local Run Manager.
- **Real-Time Analysis (RTA) software** (Software Real-Time Analysis (RTA)) – Foretager billedanalyse og basebestemmelse og tildeler en kvalitetsscore til hver base for hver cyklus. Billeder gemmes midlertidigt i kørselsmappen til behandling af RTA og slettes automatisk, når RTA-analysen er færdig.
- **Local Run Manager software** (Software Local Run Manager) – En løsning på instrumentet til oprettelse af en kørsel, statusovervågning, analyse af sekventeringsdata og visning af resultater. Local Run Manager sporer også prøveoplysninger og kontrollerer brugertiladelser. Softwaren kører på instrumentcomputeren og vises i en webbrowser. Se [Software Local Run Manager på side 5](#).

Statusikoner

Når instrumentet initialiseres eller startes, angiver et statusikon på kontrolsoftwaregrænsefladen en ændring i betingelserne. Et tal på ikonet angiver antallet af betingelser for en status.

Når status for en kørsel ændres, blinker ikonet for at advare dig. Tryk på ikonet for at se en beskrivelse af tilstanden. Vælg **Acknowledge** (Bekræft) for at rydde beskeden og derefter **Close** (Luk) for at lukke dialogboksen.

Du kan filtrere de typer meddelelser, der vises i statusvinduet, ved at vælge ikonerne langs vinduets øverste kant. Ved at vælge et ikon skifter betingelsen for at vise eller skjule.

Statusikon	Statusnavn	Beskrivelse
	Status OK	Ingen ændring. Systemet er normalt.
	Advarsel	Advarsler standser ikke en kørsel. Nogle advarsler kræver dog handling, inden der kan fortsættes.
	Fejl	Fejl standser normalt en kørsel og kræver generelt handling, før der kan fortsættes med kørslen.

Sensorindikatorer

Tre sensorindikatorer nederst på hver interfaceskærm viser status for en instrumentkomponent.

Figur 1 Sensorindikatorer



Sensorindikatorerne fra venstre til højre repræsenterer følgende komponenter:

- Reagenskølerens temperatur i °C
- Flowcellens temperatur i °C

Softwaren Local Run Manager

Softwaren Local Run Manager er en integreret løsning på instrumentet til optagelse af prøver til en kørsel, angivelse af kørselsparametre, statusovervågning, analyse af sekventeringsdata og visning af resultater.

Desuden kontrollerer Local Run Manager brugergodkendelse og giver brugere forskellige adgangsniveautilladelser. Tilladelserne gemmes i en databasefil, som MiSeqDx anvender. Local Run Manager kan også overvåge sekventeringskørslen. Se *Local Run Manager v3 Software Reference Guide (Oversigtsvejledning til softwaren Local Run Manager)* for at få flere oplysninger om MiSeqDx (dokumentnr. 200003931).

Sekventering under analyse

MiSeqDx-instrumentets computerressourcer er enten dedikeret til sekventering eller analyse.

Hvis der startes en ny sekventeringskørsel på MiSeqDx, inden den sekundære analyse fra en tidligere kørsel er gennemført, vises der med Local Run Manager en bekræftelsesdialogboks. Når du har bekræftet, at den nye sekventeringskørsel skal starte, stoppes den sekundære analyse fra den tidligere kørsel, indtil den nye kørsel afslutter sekventeringen.

Når den nye kørsel er færdig med sekventeringen, starter den sekundære analyse fra den tidligere kørsel automatisk igen fra begyndelsen.

Påkrævet diskplads

Den integrerede instrumentcomputer har en lagringskapacitet på ca. 650 GB.

Softwaren kontrollerer den tilgængelige diskplads inden opstart af en kørsel. Hvis der ikke er nok diskplads til kørslen, giver softwaren besked herom. Der står i beskeden, hvor meget diskplads kørslen kræver, og hvor meget diskplads, der skal frigøres, før kørslen kan fortsætte.

Hvis du bliver bedt om at gøre mere diskplads tilgængelig, skal du flytte eller slette ældre kørselsmapper efter behov.

Politikker for softwarebegrænsning

Windows' politikker for softwarebegrænsning (SRP) anvender regler, som kun tillader kørsel af angivet software. For MiSeqDx er SRP-reglerne baseret på certifikater, filnavne, filtypenavne og mapper.

SRP er som standard aktiveret for at forhindre uønsket software i at køre på kontrolcomputeren. SRP kan kun deaktiveres af SBS-administratoren.

En IT-repræsentant eller systemadministrator kan tilføje og fjerne regler for at brugertilpasse sikkerhedsniveauet. Hvis systemet bliver føjet til et domæne, kan det være, at det lokale gruppepolitikobjekt (GPO) automatisk ændrer reglerne og deaktiverer SRP.

Du kan finde oplysninger om konfigurering af SRP i [Kontrolcomputersikkerhed og netværk for Illumina-instrument](#).



FORSIGTIG

Deaktivering af SRP fjerner den beskyttelse, den yder. Ændring af reglerne tilsidesætter standardbeskyttelsen.

Antivirussoftware

Det anbefales kraftigt at have antivirussoftware efter eget valg for at beskytte instrumentets kontrolcomputer mod virusser. Du skal deaktivere Windows Software Restriction Policies (SRP) midlertidigt, mens du installerer antivirus-softwaren.

Du kan finde oplysninger om konfigurering af antivirus-software og SRP i [Illumina Instrument Control Computer Security and Networking](#).

Sekventeringstilstand

Når instrumentet starter op, vises Windows-skærmen **Vælg et operativsystem**. På denne skærm kan du vælge den sekvenseringstilstand for operativsystemet, du vil starte op i – Research (Forskning) (RUO) eller Diagnostic (Diagnostisk) (Dx). Hvis du venter 10 sekunder, vælges standardtilstanden automatisk. Du kan ændre standardtilstanden og standardstarttilstandstimeren når som helst.

- Når du har valgt en tilstand, skal du genstarte systemet for at skifte tilstand. Se [Genstart systemsoftware på side 7](#).
- Når du skifter mellem RUO-tilstand og Dx-tilstand, bliver du bedt om at udføre en vask efter kørsel. Vasketilstanden bibeholdes ikke mellem tilstande.

Brug af genstartsfunktionen kræver adgang på Windows-administratorniveau eller tilladelse til genstart til forskningstilstand for en almindelig bruger.



FORSIGTIG

Gendannelse af fabriks-OS (RUO/Dx) er kun beregnet til brug for Illumina-servicemontører. Denne indstilling sletter permanent alle oplysninger på C-drevet og gendanner operativsystemet til dets oprindelige tilstand. Valg af denne indstilling kræver, at en Illumina-servicetekniker gendanner systemet. Gendannelsen kan ikke annulleres, når den er startet. Vælg kun denne funktion, hvis det anbefales af en Illumina-servicemontør.

Sådan ændres standardtilstanden for opstart:

1. Vælg **Change defaults or choose other options** (Skift standardindstillinger, eller vælg andre muligheder).
2. Vælg **Choose a default operating system** (Vælg et standardoperativsystem) på skærmen Options (Indstillinger).
3. Vælg den foretrukne opstartsindstilling.
4. Vælg pilen Back (Tilbage) for at vende tilbage til skærmen **Options** (Indstillinger).

Sådan ændres timeren for standardopstartstilstand:

1. Vælg **Change defaults or choose other options** (Skift standardindstillinger, eller vælg andre muligheder).
2. Vælg **Change the timer** (Skift timer) på skærmen Options (Indstillinger).
3. Vælg den ønskede timer på skærmen Change the timer (Skift timer).
4. Vælg pilen Back (Tilbage) for at vende tilbage til skærmen **Options** (Indstillinger).



ADVARSEL

Hvis en bruger genstarter systemet i Windows 10, er det kun muligt for denne bruger at logge på systemet efter opstart.

Genstart systemsoftware

Brug kommandoen Reboot (Genstart) til at genstarte systemsoftwaren. Der er intet krav om at genstarte softwaren i forbindelse med regelmæssig vedligeholdelse.

- Vælg **Reboot** (Genstart) i hovedmenuen.

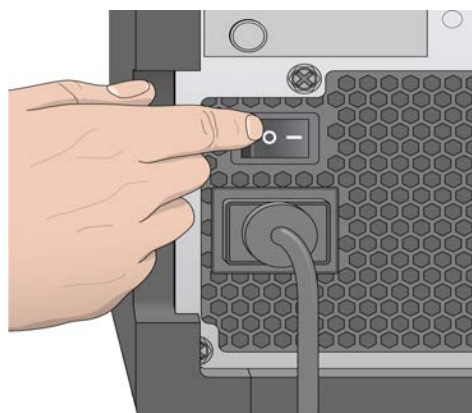
Sådan kommer du i gang

Start af MiSeqDx

1. Skift til/fra-knappen på instrumentets bagside, så den står på "tændt" (positionen |).

BEMÆRK! Den bedste ydeevne opnås ved at lade instrumentet være tændt konstant. Men hvis instrumentet skal slukkes, skal du se [Nedlukning af instrumentet på side 33](#).
Vent *minimum* 60 sekunder, før du sætter til/fra-knappen tilbage på "tændt".

Figur 2 Til/fra-knappens placering



2. Vent på, at systemet indlæses. Vælg derefter operativsystemet, og log på. Kontakt om nødvendigt din facilitetsadministrator for at få brugernavnet og adgangskoden.
Du kan finde flere oplysninger om operativsystemet og mulighederne i sekventeringstilstand i [Sekventeringstilstand på side 6](#).
Når operativsystemet er indlæst, starter MiSeq Operating Software (MOS) og initialiserer automatisk systemet. Bemærk, at MCS starter automatisk, hvis tilstanden RUO er valgt.
3. Hvis brugeradministration er aktiveret i Local Run Manager, skal du logge på med dit brugernavn og din adgangskode til Local Run Manager og vælge **Next** (Næste).

Valg af indstillingen for vask efter kørsel

Efter hver kørsel kræves der en instrumentvask. Softwaren kræver, at der foretages en vask, inden den efterfølgende kørsel konfigureres. Indstillingen for vask efter kørsel angiver, hvilken type vask der skal udføres som standard. En vask efter kørsel tager ca. 30 minutter. En vedligeholdelsesvask tager ca. 90 minutter.

1. Vælg **System Settings** (Systemindstillinger) fra hovedmenuen.

2. Vælg fanen Run Settings (Kørselsindstillinger).
3. Vælg **Post Run Wash** (Vask efter kørsel) eller **Maintenance Wash** (Vedligeholdelsesvask).

Vælg indstillingen Automatic Start Run (Start automatisk kørsel)

MiSeqDx kan konfigureres til automatisk at starte en sekventeringskørsel efter en vellykket automatisk kontrol. Konfiguration af denne funktion kræver brugeradgang på Local Run Manager-administratorniveau.

1. Vælg **System Settings** (Systemindstillinger) fra hovedmenuen.
2. Vælg fanen Run Settings (Kørselsindstillinger).
3. Markér afkrydsningsfeltet **Start run after pre-run check (Start kørslen efter prækørselskontrol)**.
Afkrydsningsfeltet Do not prompt for confirmation (Bed ikke om bekræftelse).
Start kørslen manuelt efter prækørselskontrollen, hvis denne indstilling er deaktiveret.

Aktivér Illumina Proactive Support

1. Vælg **System Settings** (Systemindstillinger) fra hovedmenuen.
2. Vælg fanen Proactive (Proaktiv).
3. Vælg **Turn on Illumina Proactive Support (Aktivér Illumina Proactive Support)** for at aktivere overvågningstjenesten Illumina Proactive.

Når denne indstilling er aktiveret, bliver der sendt instrumentfunktionsdata til Illumina. Disse data hjælper Illumina med at udføre fejlfinding og opdage potentielle fejl og muliggør dermed proaktiv vedligeholdelse og optimering af instrumentets effektive driftstid. Du kan finde yderligere oplysninger om fordelene ved denne tjeneste i *Illumina Proactive Technical Note* (Teknisk notat om Illumina Proactive) (dokumentnr. 1000000052503).

Tjenesten:

- Sender ikke sekventeringsdata.
 - Kræver, at instrumentet er forbundet til et netværk med internetadgang.
 - Er som standard slået fra. For at vælge denne tjeneste skal du aktivere indstillingen **Turn on Illumina Proactive Support** option (Aktivér Illumina Proactive Support).
4. Vælg det hosting-område, som instrumentet skal oprette forbindelse til, på rullelisten.

Angivelse af e-mailpræferencer

MiSeqDx kan konfigureres til at sende en e-mail, når RTA-analysen er fuldført, når den sekundære analyse på instrumentet er fuldført, eller hvis der opstår en kritisk MiSeqDx-softwarefejl. Denne konfiguration udføres normalt under installationen af MiSeqDx. Denne funktion kræver adgang på

Local Run Manager-administratorniveau.

1. Vælg **System Settings** (Systemindstillinger) fra hovedmenuen.
2. Vælg fanen **Email Notifications** (Mailbeskeder).
3. Indtast følgende oplysninger:
 - **Local SMTP email server address** (Lokal SMTP-e-mail-serveradresse) – Brug skærmtastaturet til at indtaste den lokale SMTP-e-mailserveradresse. Kontakt om nødvendigt facilitetsadministratoren for at få disse oplysninger.
 - **Sender address** (Afsenderadresse) – Brug skærmtastaturet til at indtaste afsenderens e-mailadresse. Denne adresse kan være din e-mailadresse eller en anden adresse, der er angivet til at sende e-mailmeddelelser. Afsenderens e-mailadresse skal have samme domænenavn som e-mailserveradressen.
 - **Recipient addresses** (Modtageradresser) – Brug skærmtastaturet til at indtaste e-mailadresserne på hver modtager, der skal modtage meddelelser. Adskil hver e-mailadresse med et komma. Vælg **Test** (Test) for at sende en test-e-mail til beskedmodtagere.
 - **Notify via email when** (Giv besked pr. e-mail når) – Markér afkrydsningsfeltet for hver af de kørselshændelser, der udløser en meddelelse.

Angivelse af standardplacering for outputmappen

MiSeqDx-outputmappen angiver standardplaceringen for outputfiler fra analyser. Mapper kan ligge på et lokalt netværk eller på instrumentcomputeren. Skift den standardmæssige outputmappe til en netværksplacering til deling eller langtidslagring.

Konfiguration af denne funktion kræver brugeradgang på Local Run Manager-administratorniveau.

1. Vælg **System Settings** (Systemindstillinger) fra hovedmenuen.
2. Vælg fanen Run Settings (Kørselsindstillinger).
3. Indtast stien til mappens placering i feltet Output Folder (Outputmappe).

Sørg for at indtaste hele UNC-stien, for eksempel `\\YourServer\Path\OutputFolder`.



ADVARSEL

Hvis du bruger et tilknyttet drev som for eksempel `Z:\OutputFolder`, gennemføres analysen af sekventeringskørslen ikke.

Nødvendige materialer

Sekventeringsmaterialer

De sekventeringsmaterialer, der er nødvendige for at gennemføre kørsler på MiSeqDx, leveres separat som en del af et *in vitro*-diagnostisk sæt.

Brugerleverede materialer

Sørg for, at følgende brugerleverede materialer er tilgængelige, før en kørsel påbegyndes.

Materiale	Formål
Spritservietter, 70 % isopropyl eller Ethanol, 70 %	Rengøring af flowcellens glas og holder
Laboratorieserviet, fnugfri	Rengøring af flowcellens holder
Linsepapir, 4 x 6 in.	Rengøring af flowcellen
MiSeq-rør	Vask af skabelonlinjen (valgfrit)
NaOCl, 5 %	Vask af skabelonlinjen (valgfrit)
Tween 20	Vask af instrumentet
Pincet med flad ende, plastik (valgfrit)	Udtagning af flowcellen fra transportbeholderen
Vand, laboratoriekvalitet	Vask af instrumentet

Retningslinjer for laboratorievand

Der skal altid anvendes vand af laboratoriekvalitet eller deioniseret vand i forbindelse med udførelse af procedurer på instrumentet. Brug aldrig postevand.

Anvend kun vand af følgende kvalitet eller tilsvarende:

- Deioniseret vand
- Illumina PW1
- 18 megohms (M Ω) vand
- Milli-Q-vand
- Super-Q-vand
- Vand af molekylærbiologisk kvalitet

Opbevaring og håndtering

Element	Specifikation
Temperatur	Transport og opbevaring: -10 °C til 40 °C (14 °F til 104 °F) Driftsbetingelser: 19 °C til 25 °C (66 °F til 77 °F)
Luftfugtighed	Transport og opbevaring: Ikke-kondenserende fugtighed Driftsbetingelser: 30-75 % relativ fugtighed (ikke-kondenserende)

Sekventering

Introduktion

Hvis du vil foretage en kørsel på MiSeqDx, skal du følge den kørselskonfiguration, der er beskrevet i dette kapitel. Når kørslen begynder, er ingen anden brugerindgriben påkrævet.

Når sekventeringskørslen er færdig, skal du foretage en instrumentvask.

Kørselsvarighed

Kørselens varighed er baseret på antallet af udførte cyklusser. MiSeqDx kan foretage en paired end-sekventeringskørsel på op til 2 x 301 sekventeringscyklusser, afhængig af versionen af MiSeqDx-reagenser.

Antal cyklusser i en læsning

Antallet af gennemførte cyklusser i en læsning er én mere end antallet af analyserede cyklusser. Den ekstra cyklus bliver brugt til beregninger af faseopdeling og præ-faseopdeling.

Eksempel: I en paired end-læsning med 150 cyklusser bliver der gennemført to læsninger af 151 cyklusser (2 x 151), altså 302 cyklusser i alt, samt eventuelle cyklusser for indekslæsninger. Når kørslen er slut, udføres der analyse på 2 x 150 cyklusser.

Clustergenerering

I forbindelse med clustergenereringen bliver enkelte DNA-molekyler bundet til flowcellens overflade, hvorefter de bliver broamplificeret for at danne clustre.

Sekventering

Efter clustergenerering bliver clustrene fotograferet ved hjælp af LED og filterkombinationer, der er specifikke for hver af de fluorescensmærkede dideoxynukleotider. Når billeddannelsen af et felt i flowcellen er fuldført, flyttes flowcellen på plads for at eksponere det næste felt. Denne proces gentages, indtil alle felter er afbildet. Efter billedanalysen udfører softwaren den primære analyse, hvilket omfatter basebestemmelse, filtrering og bestemmelse af kvalitetsscorer.

Analyse

Når kørslen er færdig, starter analysesoftwaren Local Run Manager automatisk for at udføre en sekundær analyse.

Den sekundære analyse kan overvåges fra en anden computer ved hjælp af en internetforbindelse, forudsat at computeren har samme netværksforbindelse som MiSeqDx. Se *Local Run Manager v3 Software Reference Guide for MiSeqDx (Oversigtsvejledning til softwaren Local Run Manager til MiSeqDx) (dokumentnr. 200003931)*.

Klargøring af reagenskassetten

I de følgende instruktioner beskrives det, hvordan reagenskassetten optøs ved hjælp af et vandbad ved stuetemperatur.

1. Optø reagenskassetten i et vandbad, der indeholder tilstrækkelig deioniseret vand med stuetemperatur til at nedsænke bunden af reagenskassetten op til den vandlinje, der er trykt på reagenskassetten. Vandet må ikke overstige den maksimale vandlinje.
2. Tag reagenskassetten ud af fryseren (-25 °C til -15 °C).
3. Placér reagenskassetten i et vandbad, der indeholder tilstrækkeligt deioniseret vand med stuetemperatur til at nedsænke bunden af reagenskassetten. Vandet må ikke overskride den maksimale vandlinje.

Figur 3 Maksimumsvandlinje



4. Lad reagenskassetten tø op i et vandbad ved stuetemperatur, indtil den er helt optøet. Optøningstiden varierer fra ca. 60 til 90 minutter afhængigt af typen af reagenskassette. Se indlægssedlen for at få flere oplysninger.
5. Fjern kassetten fra vandbadet, og bank den forsigtigt på bænken for at fjerne vandet fra bunden af kassetten. Tør bunden af kassetten. Kontrollér, at der ikke er sprøjtet vand op på toppen af reagenskassetten.

Kontrollér reagenskassetten

1. Vend reagenskassetten ti gange for at blande de optøede reagenser, og kontrollér derefter, at alle positioner er optøet.
2. Kontrollér reagenserne i position 1, 2 og 4 for at sikre, at de er helt blandede og fri for bundfald.

BEMÆRK! Det er vigtigt, at reagenserne i kassetten optøs og blandes grundigt for at sikre korrekt sekventering.

3. Bank forsigtigt kassetten mod bordet for at fjerne luftbobler i reagenserne.

BEMÆRK! MiSeqDx-sugerørene går til bunden af hvert reservoir for at aspirere reagenserne, så det er vigtigt, at reservoirerne er fri for luftbobler.

4. Læg reagenskassetten på is, eller sæt den til side ved 2 °C til 8 °C (op til seks timer), indtil den er klar til konfiguration af kørslen. Fortsæt direkte til overførsel af prøven og konfiguration af kørslen for at opnå de bedste resultater.

Overførsel af biblioteker til kassetten

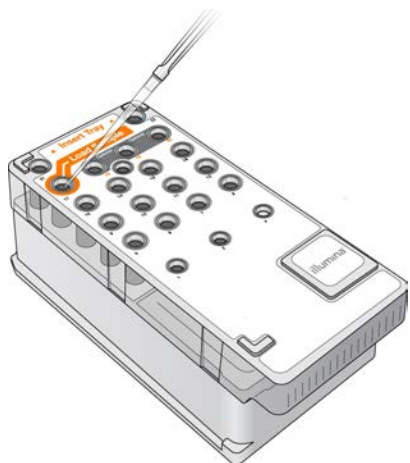
Når reagenskassetten er helt optøet og klar til brug, er du klar til at overføre prøver til kassetten.

1. Prik hul på folieforseglingen over reservoiret på reagenskassetten mærket **Load Samples** (Overfør prøver) med en separat, ren og tom 1 ml pipettespids.

BEMÆRK! Prik ikke hul på andre reagenspositioner. Der prikkes automatisk hul på de andre reagenspositioner under kørslen.

2. Pipettér 600 µl klargjort fortyndet amplikonbibliotek (DAL)-biblioteksprøver til reservoiret **Load Samples** (Overfør prøver). Undgå kontakt med folieforseglingen.
3. Kontroller, om der er luftbobler i reservoiret efter overførsel af prøven. Hvis der er luftbobler, skal du forsigtigt banke kassetten mod bænken for at fjerne boblerne.

Figur 4 Overførsel af biblioteker



4. Fortsæt direkte til kørselskonfigurationen ved hjælp af brugergrænsefladen i MiSeq Operating Software (MOS).

Log ind og følg sekventeringsmeddelelserne

1. Vælg **Sequence** (Sekventér) på startskærmen.

2. Hvis login-skærmen åbnes, skal du indtaste de relevante brugeroplysninger og derefter vælge **Next** (Næste). Vælg **Sequence** (Sekventér) igen efter login.
3. Vælg en kørsel på listen.
4. [Valgfrit] Vælg **Preview Samples** (Se prøver) for at se en liste med prøver i kørslen.
5. Vælg **Next** (Næste).
6. Følg anvisningerne for at indlæse flowcellen og reagenserne og konfigurere kørslen (beskrevet i de følgende afsnit).

Rengør flowcellen

Flowcellen er nedsænket i opbevaringsbuffer i en flowcellebeholder.

1. Tag et par nye pulverfrie handsker på.
2. Tag fat i flowcellen ved bunden af plastkassetten med en plastpincet, og fjern den fra flowcellebeholderen.

Figur 5 Fjern flowcellen



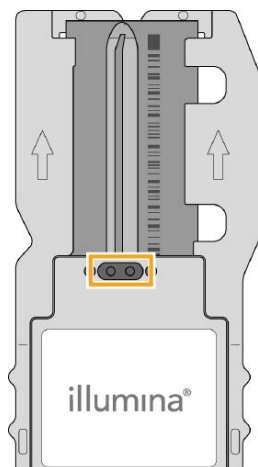
3. Skyl flowcellen let med vand i laboratoriekvalitet, og sørg for, at både glas- og plastkassetten er skyllet grundigt for overskydende salte. Overskydende salte kan påvirke flowcellens placering på instrumentet. Hvis salte tørrer i billedområdet, kan billeddannelsen også påvirkes.

Figur 6 Skyl flowcellen



4. Tør grundigt flowcellen og kassetten med en fnugfri linseserviet, og vær forsigtig omkring tætningen på den sorte flowcelleport (vist i nedenstående illustration). Dup forsigtigt området omkring tætningen og det tilstødende glas tørt.

Figur 7 Flowcelleporte og -tætning



5. Rengør flowcelleglasset med en spritserviet. Sørg for, at glasset er fri for striber, fingeraftryk og fnug eller servietfibre.

BEMÆRK! Brug ikke spritservietter på flowcelleportens tætning.

Figur 8 Tør flowcellen

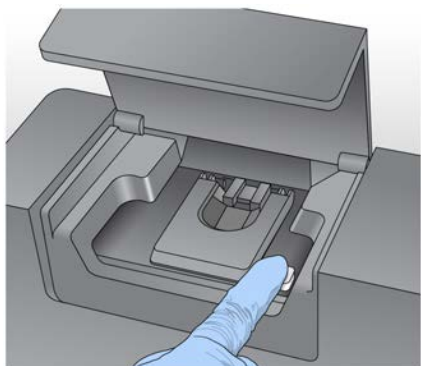


6. Fjern overskydende sprit med en fnugfri linseserviet.
7. Sørg for, at flowcelleportene er fri for forhindringer, og at tætningen er placeret korrekt omkring flowcelleportene.
Hvis tætningen ser ud til at sidde løst, skal du trykke den forsigtigt tilbage på plads, indtil den sidder sikkert omkring flowcelleportene.

Overførsel af flowcellen

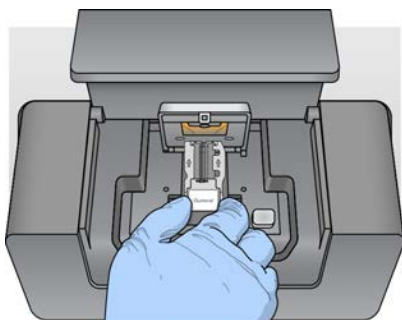
1. Hæv døren til flowcellekammeret, og tryk derefter på udløserknappen til højre for flowcellelåsen. Flowcellelåsen åbnes.

Figur 9 Åbn flowcellelåsen



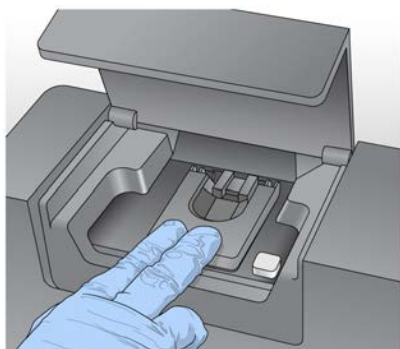
2. Kontrollér, at der ikke er fnug eller fibre på flowcellen. Hvis der er fnug eller andet snavs, skal flowcelleholderen rengøres med en spritserviet eller en fnugfri serviet fugtet med ethanol eller isopropanol. Tør forsigtigt overfladen af flowcelleholderen, indtil den er ren og tør.
3. Hold flowcellen i kanterne af flowcellekassetten, og anbring den på flowcelleholderen.

Figur 10 Placér flowcellen på holderen



4. Tryk forsigtigt på flowcellelåsen for at lukke den over flowcellen. Justeringsstifter positionerer flowcellen, når flowcellelåsen lukker. Når du hører et klik, er flowcellelåsen er sikret.

Figur 11 Luk flowcellelåsen



5. Se [Løs RFID-læsningsfejl på side 38](#), hvis softwaren ikke identificerer flowcellens RFID.

BEMÆRK! Id-oplysningerne kan indtastes manuelt, hvis RFID ikke kan aflæses. Softwaren tillader dog kun, at en af de tre RFID-mærkede komponenter (flowcelle, reagenskassette, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) svigter i en in-vitro-diagnostisk kørsel. Du kan finde flere oplysninger under [Løs RFID-læsningsfejl på side 38](#).

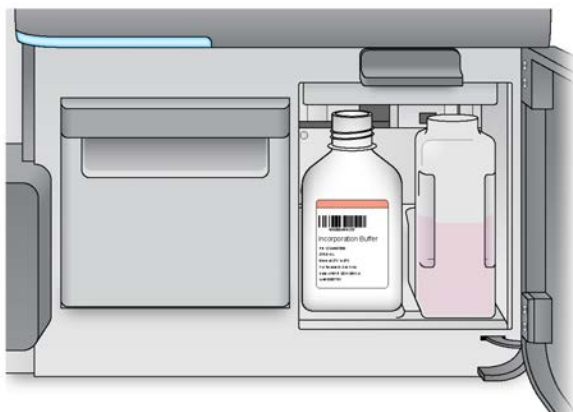
6. Luk døren til flowcellekammeret.
7. Vælg **Next** (Næste).

Overfør reagenser

Overfør MiSeqDx SBS Solution (PR2), og kontroller affaldsflasken

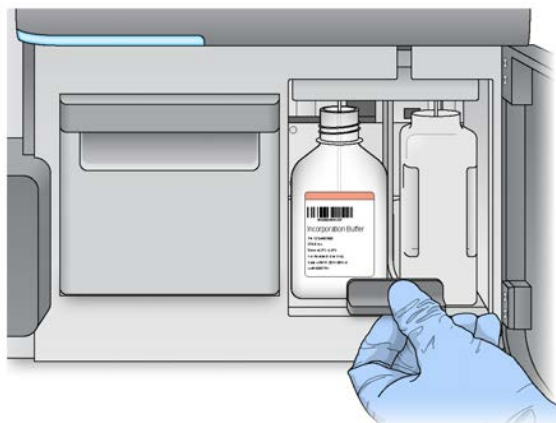
1. Fjern flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2) fra 2 °C til 8 °C opbevaring. Vend op og ned for at blande, og fjern derefter låget.
2. Åbn døren til reagenskammeret.
3. Hæv håndtaget til sugerøret, indtil det låses på plads.
4. Fjern vaskeflasken, og isæt flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2).

Figur 12 Isæt flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2).



5. Tøm indholdet af affaldsflasken ned i den relevante beholder.
6. Sænk langsomt håndtaget til sugerøret. Sørg for, at sugerørene sænkes ned i MiSeqDx SBS Solution (PR2) og affaldsflaskerne.

Figur 13 Sænk håndtaget til sugerøret



7. Se [Løs RFID-læsningsfejl på side 38](#), hvis softwaren ikke identificerer RFID-mærkningen på flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2).

BEMÆRK! Id-oplysningerne kan indtastes manuelt, hvis RFID ikke kan aflæses. Softwaren tillader dog kun, at en af de tre RFID-mærkede komponenter (flowcelle, reagenskassette, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) svigter i en in-vitro-diagnostisk kørsel. Du kan finde flere oplysninger under [Løs RFID-læsningsfejl på side 38](#).

8. Vælg **Next** (Næste).

Indsættelse af reagenskassetten

1. Åbn døren til reagenskøleren.

BEMÆRK! Lad ikke døren til reagenskøleren stå åben i længere perioder.

2. Hold reagenskassetten i enden med Illumina-mærkatet, og skub reagenskassetten ind i reagenskøleren, indtil kassetten stopper.

Figur 14 Overførsel af reagenskassetten



3. Luk døren til reagenskøleren.
4. Se [Løs RFID-læsningsfejl på side 38](#), hvis softwaren ikke identificerer reagenskassettsens RFID.

BEMÆRK! Id-oplysningerne kan indtastes manuelt, hvis RFID ikke kan aflæses. Softwaren tillader dog kun, at en af de tre RFID-mærkede komponenter (flowcelle, reagenskassette, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) svigter i en in-vitro-diagnostisk kørsel. Du kan finde flere oplysninger under [Løs RFID-læsningsfejl på side 38](#).

5. Vælg en af følgende muligheder for at starte kørslen:
 - Hvis systemet ikke er konfigureret til at starte automatisk efter en vellykket kontrol, skal du vælge **Start Run** (Start kørsel).
 - Hvis systemet er konfigureret til at starte automatisk efter en vellykket kontrol, starter sekventeringskørslen automatisk. Det er ikke nødvendigt at være til stede. Kørslen starter dog ikke automatisk, hvis der opstår fejl under kontrollen.

BEMÆRK! Hvis reagenskølertemperaturen er uden for intervallet, kan det forhindre start af sekventeringskørsel. Se [Løs temperaturfejl i reagenskøleren på side 42](#).

Vigtig bemærkning inden starten på kørslen



ADVARSEL

MiSeqDx er følsom over for vibrationer. Berøring af instrumentet efter start af en kørsel kan påvirke sekventeringsresultaterne negativt.

Flowcellerummet eller reagensrummets låger må ikke åbnes efter isætning af reagenskassetten og lukning af reagensrummets låger. Instrumentets monitor må kun berøres for at sætte kørslen på pause. Du kan finde flere oplysninger i [Sæt en kørsel på pause på side 36](#).



ADVARSEL

Sørg for at lukke alle filer på MiSeqDx, inden du starter en kørsel, og undlad at åbne filer under en kørsel.

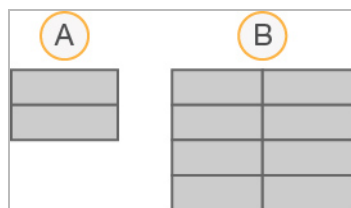
Overvåg kørslen

Overvåg kørselsoplysninger ved hjælp af skærmen Sequencing (Sekventering) på instrumentet under en kørsel. Skærmen Sequencing (Sekventering) er kun til visning.

Du kan også bruge Local Run Manager til at fjernovervåge en kørsel, hvis instrumentet er tilsluttet det samme netværk.

Local Run Manager viser status for kørslen og sekventeringsoplysninger (Total Clusters (Clustre i alt), % Clusters PF (Procentdel af clustre, der passerer filteret), Read 1 (Læsning 1) og Read 2 (Læsning 2) % \geq Q30 og Last Scored Cycle (Sidste cyklus med score)). Du kan finde yderligere oplysninger under [Software Local Run Manager på side 5](#).

1. Overvåg kørselsstatus, intensiteter og kvalitetsresultater, der vises på instrumentets sekventerings-skærm.
 - **Run Progress** (Kørselsstatus) – Viser kørselsstatus i en statuslinje og angiver antallet af gennemførte cyklusser.
 - **Intensity** (Intensitet) – Viser 90-percentilens clusterintensitetsværdi for hvert felt. Grafikken i området Intensity (Intensitet) repræsenterer antallet af felter, der afbildes.
 - Hvis flowcellen kun vises på den øverste overflade, vises der grafik med en enkelt kolonne.
 - Hvis flowcellen vises på den øverste og den nederste overflade, vises der grafik med to kolonner.



- A. Angiver to felter, kun den øverste overflade
 B. Angiver fire felter, øverste og nederste overflade

- **Q-Score All Cycles** (Q-score alle cyklusser) – Viser den gennemsnitlige procentdel af baser større end Q30, hvilket er en kvalitetsscore (Q-score). En Q-score er en prognose for sandsynligheden for en ukorrekt basebestemmelse. Q-scoring beregnes efter cyklus 25.

Q-score	Sandsynlighed for forkert basebestemmelse
Q40	1 af 10.000
Q30	1 af 1.000
Q20	1 af 100
Q10	1 af 10

- **Cluster Density (K/mm²)** (Clusterdensitet (K/mm²)) – Viser antallet af clustre pr. kvadratmillimeter for kørslen. Optimalt kan der forventes en clusterdensitet på 800 K/mm².

BEMÆRK! En basebestemmelses renhed er forholdet mellem intensiteten af det største signal divideret med summen af de to største signaler. Hvis mere end en basebestemmelse har en renhed på mindre end 0,6 i de første 25 cyklusser, passerer læsninger ikke kvalitetsfilteret.

- **Estimated Yield (Mb)** (Estimeret udbytte (Mb)) – Viser det forventede antal baser bestemt for kørslen målt i megabaser. Disse data vises kun efter cyklus 25.

2. Når kørslen er fuldført, vises knappen Next (Næste). Gennemgå resultaterne på skærmen Sequencing (Sekventering), inden du fortsætter.

BEMÆRK! Skærmen Sequencing (Sekventering) vises, indtil der trykkes på Next (Næste). Når du har trykket på Next (Næste), er det ikke muligt at vende tilbage til skærmen Sequencing (Sekventering).

3. Vælg **Next** (Næste) for at afslutte skærmen Sequencing (Sekventering) og fortsætte til en vask efter kørslen.

Generering af skabeloner

Real-Time Analysis (RTA) bruger de første fire cyklusser fra sekventeringskørslen til skabelongenerering. Skabelongenerering er den proces, hvorved clusterpositioner over hele flowcelleoverfladen defineres i henhold til X- og Y-koordinatpositioner.

Efter skabelonen med clusterpositioner er genereret, produceres der billeder for hver efterfølgende billedbehandlingscyklus justeret i forhold til skabelonen. Individuelle clusterintensiteter i alle fire nukleotidfarvekanaler ekstraheres, og basisbestemmelser produceres ud fra de normaliserede clusterintensiteter.

Kørselsmålinger

Kørselsmålingerne vises på skærmen Sequencing (Sekventering) på forskellige tidspunkter af en kørsel. På trin med clustergenerering bliver der ikke vist nogen målinger.

Efter sekventeringen er begyndt, vises følgende målinger ved de angivne cyklusser:

Cyklus	Måling
Cyklus 1-4	Intensitet
Cyklus 4-25	Intensitet og clusterdensitet
Cyklus 25 til afslutning af kørsel	Intensitet, clusterdensitet, % PF, udbytte og Q-scorer

Foretag en vask efter kørslen

Vasken efter kørslen er den instrumentvask, der udføres som standard mellem sekventeringskørsler. Foretag altid en instrumentvask efter afslutningen på en sekventeringskørsel. Følg instruktionerne i softwaren for at isætte vaskekomponenterne og udføre vasken. Vasken efter kørslen tager ca. 20 minutter.

Start vasken direkte efter kørslen. Der kræves en instrumentvask, før du kan konfigurere en efterfølgende kørsel. For at udføre en vask efter kørslen på et andet tidspunkt end direkte efter en kørsel skal du bruge kommandoen på skærmen Perform Wash (Udfør vask) til at starte vasken.

Regelmæssige instrumentvaske sikrer fortsat ydeevne på følgende måder:

- Fjerner eventuelle resterende reagenser fra fluidikledningerne og sugerørene
- Forhindrer saltophobning og krystallisering i fluidikledningerne og sugerørene
- Forhindrer krydskontaminering fra forrige kørsel

Du kan udføre en valgfri vask efter kørsel, som omfatter en skabelonlinjevask med en natriumhypochloritopløsning (NaOCl). Vasken tager ca. 30 minutter. Se [Procedure for skabelonlinjevask på side 25](#).

BEMÆRK! Lad den brugte flowcelle sidde på instrumentet. Der skal overføres en flowcelle til instrumentet for at foretage en instrumentvask.

Brugerleverede materialer

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, katalognr. P7949)
- Vand i laboratoriekvalitet
- NaOCl (bruges med en vask efter kørsel, som omfatter en skabelonlinjevask)
- MiSeq-rør (delnr. MS-102-9999) (til vaske efter kørsel, som omfatter en skabelonlinjevask)

Fremgangsmåde

1. Klargør en ny vaskeopløsning med Tween 20 og vand i laboratoriekvalitet på følgende måde:
 - a. Tilsæt 5 ml 100 % Tween 20 til 45 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i 10 % Tween 20.
 - b. Tilsæt 25 ml 10 % Tween 20 til 475 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i en 0,5 % Tween 20-vaskeopløsning.
 - c. Vend op og ned gentagne gange for at blande.
2. Klargør vaskekomponenterne med en frisk 0,5 % Tween 20-vaskeopløsning på følgende måde:
 - a. Tilsæt 6 ml vaskeopløsning i hvert reservoir i vaskebakken.
 - b. Tilsæt 350 ml vaskeopløsning til vaskeflasken på 500 ml.
3. Vælg **Start Wash** (Start vask) fra skærmen for vask efter kørsel. Softwaren hæver automatisk sugerørene i reagenskøleren. Vent nogle sekunder for at sikre dig, at sugerørene er helt hævet, inden du fortsætter. Vælg *ikke* **Perform optional template line wash** (Foretag valgfri skabelonlinjevask) på skærmen for vask efter kørsel. Skabelonlinjevasken kræver en anden procedure. Se [Procedure for skabelonlinjevask på side 25](#).
4. Åbn døren til reagenskammeret og døren til reagenskøleren, og skub den brugte reagenskassette ud fra køleren.
5. Skub vaskebakken ind i reagenskøleren, indtil den stopper, og luk derefter døren til reagenskøleren.
6. Hæv håndtaget til sugerøret foran flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2) og vaskeflasken, indtil det låses på plads.
7. Fjern flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2), og erstæt den med vaskeflasken.

BEMÆRK! Bortskaf flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2) efter hver kørsel. Eventuel resterende MiSeqDx SBS Solution (PR2) må ikke genanvendes.

8. Tag vaskeflasken ud, og bortskaf indholdet korrekt. Sæt vaskeflasken tilbage i reagenskammeret.



ADVARSEL

Dette reagenssæt indeholder potentielt farlige kemikalier. Inhalation, indtagelse, hudkontakt og øjenkontakt kan resultere i personskader. Anvend beskyttelsesudstyr, herunder briller, handsker og laboratoriekittel, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod eksponeringsfaren. Anvendte reagenser skal håndteres som kemisk affald og bortskaffes i overensstemmelse med gældende nationale love og forordninger. Du kan finde yderligere miljø-, sundheds- og sikkerhedsrelaterede oplysninger i sikkerhedsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

9. Sænk langsomt håndtaget til sugerøret, og sørg for, at sugerørene sænkes ned i vaskeflasken og affaldsflasken.
10. Luk døren til reagenskammeret.
11. Vælg **Next** (Næste). Vasken efter kørslen starter.

Når vasken er gennemført, skal du efterlade den brugte flowcelle, vaskebakke og vaskeflaske med den resterende vaskeopløsning på instrumentet.

BEMÆRK! Sugereørene forbliver nede, hvilket er normalt. Lad den ubrugte vaskeopløsning blive i vaskebakken og vaskeflasken for at forhindre, at sugerørene tørrer ud, og at der ikke kommer luft ind i systemet.

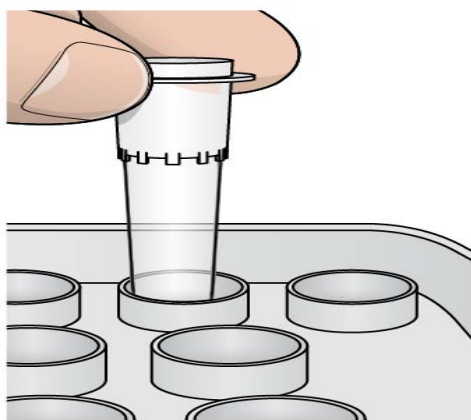
Procedure for skabelonlinjevask

- Klargør en ny vaskeopløsning med Tween 20 og vand i laboratoriekvalitet på følgende måde.
 - Tilsæt 5 ml 100 % Tween 20 til 45 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i 10 % Tween 20.
 - Tilsæt 25 ml 10 % Tween 20 til 475 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i en 0,5 % Tween 20-vaskeopløsning.
 - Vend op og ned fem gange for at blande.
- Klargør en ny NaOCl-vaskeopløsning med vand i laboratoriekvalitet på følgende måde.
 - Tilsæt 36 µl 5 % NaOCl til 864 µl vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i en NaOCl-fortynding på 1:25.
 - Tilsæt 50 µl 1:25 NaOCl-fortynding til 950 µl vand i laboratoriekvalitet i et MiSeq-rør (delnr. MS-102-9999).

BEMÆRK! Det er vigtigt at bruge den rigtige koncentration af NaOCl. Sørg for at kontrollere procentdelen af NaOCl på produktmærkatet. Hvis koncentrationen er for høj, kan det forårsage, at clustergenereringen mislykkes i efterfølgende kørsler. Hvis 5 % NaOCl ikke er tilgængeligt, skal du fremstille en 1 ml opløsning af 0,01 % NaOCl i vand af laboratoriekvalitet. Brug *ikke* NaOCl til en vedligeholdelsesvask eller en standbyvask.

3. Klargør vaskekomponenterne med en frisk vaskeopløsning på følgende måde.
 - a. Tilsæt 6 ml vaskeopløsning i hvert reservoir i vaskebakken.
 - b. Tilsæt 350 ml vaskeopløsning til vaskeflasken på 500 ml.
4. Indsæt MiSeq-røret med en vaskeopløsning på 0,01 % NaOCl i position 17 på vaskebakken, indtil kanten af røret flugter med bakken. Røret fortrænger vaskeopløsningen med Tween 20 og vand i laboratoriekvalitet fra position 17.

Figur 15 MiSeq-rør i position 17 på vaskebakken



BEMÆRK! Sørg for kun at indsætte MiSeq-røret med NaOCl i position 17 på bakken. Hvis røret indsættes i en anden position, kan det medføre, at clustergenereringen mislykkes i efterfølgende kørsler, hvilket kan beskadige fluidiksystemet i MiSeqDx-instrumentet.

5. Vælg **Start Wash** (Start vask), når kørslen er færdig. Softwaren hæver automatisk sugerørene i reagenskøleren.
6. Vælg **Perform optional template line wash** (Foretag valgfri skabelonlinjevask) på skærmen Post-Run Wash (Vask efter kørsel).
7. Åbn døren til reagenskammeret og døren til reagenskøleren, og skub den brugte reagenskassette ud fra køleren.
8. Skub vaskebakken ind i reagenskøleren, indtil den stopper, og luk derefter døren til reagenskøleren.
9. Hæv håndtaget til sugerøret foran PR2-flasken og affaldsflasken, indtil det låses på plads.

10. Fjern PR2-flasken, og erstat den med vaskeflasken.
11. Tag vaskeflasken ud, og bortskaf indholdet korrekt. Sæt vaskeflasken tilbage i reagenskammeret.



ADVARSEL

Dette reagenssæt indeholder potentielt farlige kemikalier. Inhalation, indtagelse, hudkontakt og øjenkontakt kan resultere i personskader. Anvend beskyttelsesudstyr, herunder briller, handsker og laboratoriekittel, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod eksponeringsfaren. Anvendte reagenser skal håndteres som kemisk affald og bortskaffes i overensstemmelse med gældende nationale love og forordninger. Du kan finde yderligere miljø-, sundheds- og sikkerhedsrelaterede oplysninger i sikkerhedsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

12. Sænk langsomt håndtaget til sugerøret, og sørg for, at sugerørene sænkes ned i vaskeflasken og affaldsflasken.
13. Luk døren til reagenskammeret.
14. Vælg **Next** (Næste). Vasken efter kørslen starter.

Når vasken er gennemført, skal du efterlade den brugte flowcelle, vaskebakke og vaskeflaske med den resterende vaskeopløsning på instrumentet.

BEMÆRK! Sugerørene forbliver nede, hvilket er normalt. Lad den ubrugte vaskeopløsning blive i vaskebakken og vaskeflasken for at forhindre, at sugerørene tørrer ud, og at der ikke kommer luft ind i systemet.

Vedligeholdelse

Vedligeholdelsesfrekvens

Udfør de vedligeholdelsesaktiviteter, som er beskrevet i dette kapitel, med de intervaller, der er vist i de følgende tabeller.

Tabel 1 Vedligeholdelse under normal drift

Aktivitet	Månedlig	Efter behov
Vedligeholdelsesvask	X	
Standby-vask		Forberedelse til inaktivitet (≥ 7 dage uden brug)
Nedlukning af instrument		X

Tabel 2 Vedligeholdelse under inaktivitet (≥ 7 dage uden brug)

Aktivitet	Månedlig	Efter behov
Standby-vask	X	
Nedlukning af instrument		X

Forebyggende vedligeholdelse

Illumina anbefaler én forebyggende vedligeholdelse pr. kalenderår. Kontakt din lokale account manager eller Illuminas tekniske support for at bestille forebyggende service mod betaling, hvis du ikke har en servicekontrakt på instrumentet.

Foretag en vedligeholdelsesvask

Foretag en vedligeholdelsesvask hver 30. dag for at sikre optimal ydeevne. Det tager ca. 90 minutter at udføre vedligeholdelsesvasken. Vasken omfatter en serie på tre vasketrin, der gennemskyller systemet grundigt med en vaskeopløsning af vand i laboratoriekvalitet blandet med Tween 20.

Du kan konfigurere instrumentet til at udføre en vedligeholdelsesvask i stedet for en vask mellem kørsler. Se [Valg af indstillingen for vask efter kørsel på side 8](#).

Brugerleverede materialer

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, katalognr. P7949)
- Vand i laboratoriekvalitet



FORSIGTIG

Luk altid døren til reagenskøleren efter ilægning af vaskebakken, og før du starter en vask. Dette trin forhindrer potentiel skade, der kan opstå, hvis dine hænder er i vejen for sugerørene, når de sænkes.

Fremgangsmåde

1. Sørg for, at en brugt flowcelle er indført i instrumentet.
2. Vælg **Perform Wash** (Udfør vask) på startsidens.
3. Vælg **Maintenance Wash** (Vedligeholdelsesvask) fra skærmen Perform Wash (Udfør vask). Softwaren hæver automatisk sugerørene i reagenskøleren.

BEMÆRK! Brug altid ny vaskeopløsning til hvert vasketrin. Genbrug af vaskeopløsning fra den forrige vask kan medføre, at affald føres tilbage i fluidikledningerne.

Udfør første vask

1. Klargør en ny vaskeopløsning med Tween 20 og vand i laboratoriekvalitet på følgende måde:
 - a. Tilsæt 5 ml 100 % Tween 20 til 45 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i 10 % Tween 20.
 - b. Tilsæt 25 ml 10 % Tween 20 til 475 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i en 0,5 % Tween 20-vaskeopløsning.
 - c. Vend op og ned gentagne gange for at blande.
2. Klargør vaskekomponenterne med en frisk 0,5 % Tween 20-vaskeopløsning på følgende måde:
 - a. Tilsæt 6 ml vaskeopløsning i hvert reservoir i vaskebakken.
 - b. Tilsæt 350 ml vaskeopløsning til vaskeflasken på 500 ml.
3. Overfør vaskebakken og vaskeflasken til instrumentet:
 - a. Åbn døren til reagenskammeret og døren til reagenskøleren, og skub den brugte reagenskassette eller vaskebakke ud fra køleren.
 - b. Skub vaskebakken ind i reagenskøleren, indtil den stopper. Luk døren til reagenskøleren.
 - c. Hæv håndtaget til sugerøret foran flasken med MiSeqDx SBS- Solution (PR2) og affaldsflasken, indtil den låses på plads, og udskift flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2) med vaskeflasken.

BEMÆRK! Bortskaf flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2) efter hver kørsel. Eventuel resterende MiSeqDx SBS Solution (PR2) må ikke genanvendes.

- d. Tag vaskeflasken ud, og bortskaf indholdet korrekt. Sæt vaskeflasken tilbage i reagenskammeret.
 - e. Sænk langsomt håndtaget til sugerøret, og sørg for, at sugerørene sænkes ned i vaskeflasken og affaldsflasken.
 - f. Luk døren til reagenskammeret.
4. Vælg **Next** (Næste). Den første vask begynder.

Udfør den anden vask

1. Klargør en ny vaskeopløsning med Tween 20 og vand i laboratoriekvalitet på følgende måde:
 - a. Tilsæt 5 ml 100 % Tween 20 til 45 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i 10 % Tween 20.
 - b. Tilsæt 25 ml 10 % Tween 20 til 475 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i en 0,5 % Tween 20-vaskeopløsning.
 - c. Vend op og ned gentagne gange for at blande.
2. Fjern vaskebakken og vaskeflasken, og kasser den resterende vaskeopløsning, når den første vask er færdig.
3. Genopfyld vaskekomponenterne med frisk 0,5 % Tween 20-vaskeopløsning på følgende måde:
 - a. Tilsæt 6 ml vaskeopløsning i hvert reservoir i vaskebakken.
 - b. Tilsæt 350 ml vaskeopløsning til vaskeflasken på 500 ml.
4. Isæt vaskebakken og vaskeflasken på følgende måde:
 - a. Skub vaskebakken ind i reagenskøleren, indtil den stopper. Luk døren til reagenskøleren.
 - b. Overfør vandflasken, og sænk håndtaget til sugerøret langsomt, og sørg for, at sugerørene sænkes ned i vaskeflasken og affaldsflasken.
 - c. Luk døren til reagenskammeret.
5. Vælg **Next** (Næste). Den anden vask begynder.

Udfør den endelige vask

1. Klargør en ny vaskeopløsning med Tween 20 og vand i laboratoriekvalitet på følgende måde:
 - a. Tilsæt 5 ml 100 % Tween 20 til 45 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i 10 % Tween 20.
 - b. Tilsæt 25 ml 10 % Tween 20 til 475 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i en 0,5 % Tween 20-vaskeopløsning.
 - c. Vend op og ned gentagne gange for at blande.

2. Fjern vaskebakken og vaskeflasken, og kassér den resterende vaskeopløsning, når den anden vask er færdig.
3. Genopfyld vaskekomponenterne med frisk 0,5 % Tween 20-vaskeopløsning på følgende måde:
 - a. Tilsæt 6 ml vaskeopløsning i hvert reservoir i vaskebakken.
 - b. Tilsæt 350 ml vaskeopløsning til vaskeflasken på 500 ml.
4. Isæt vaskebakken og vaskeflasken på følgende måde:
 - a. Skub vaskebakken ind i reagenskøleren, indtil den stopper. Luk døren til reagenskøleren.
 - b. Overfør vaskeflasken, og sænk håndtaget til sugerøret langsomt, og sørg for, at sugerørene sænkes ned i vaskeflasken og affaldsflasken.
 - c. Luk døren til reagenskammeret.
5. Vælg **Next** (Næste). Det endelige vask begynder.

Efter vasken

Når vasken er gennemført, skal du efterlade den brugte flowcelle, vaskebakke og vaskeflaske med den resterende vaskeopløsning på instrumentet.

BEMÆRK! Sugerørene forbliver nede, hvilket er normalt. Lad den ubrugte vaskeopløsning blive i vaskebakken og vaskeflasken for at forhindre, at sugerørene tørrer ud, og at der ikke kommer luft ind i systemet.

Foretag en standby-vask

Hvis der ikke er planer om at bruge instrumentet inden for de næste 7 dage, skal instrumentet forberedes til inaktivitet ved at udføre en standby-vask. Standby-vasken forbereder fluidikslangerne til inaktivitet og udfører to på hinanden følgende vaske, som skyller begge positioner for eventuelle resterende reagenser eller saltophobninger. Hver vask tager ca. 60 minutter. Afsæt ca. to timer til at gennemføre standby-vasken.

Når standby-vasken er færdig, er instrumentet i standby-tilstand, og der vises en meddelelse på startskærmen, som angiver instrumentets status. Når instrumentet er i standby-tilstand, skal der udføres en vedligeholdelsesvask, før en sekventeringskørsel kan påbegyndes.

BEMÆRK! Illumina anbefaler at gentage standby-vasken *hver 30. dag*, hvor instrumentet er inaktivt.

Brugerleverede materialer

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, katalognr. P7949)
- Vand i laboratoriekvalitet eller deioniseret vand (for retningslinjer for vand i laboratoriekvalitet henvises til *MiSeqDx Site Prep Guide (Stedforberedelsesvejledning til MiSeqDx)* (dokumentnr. 15070066))

Fremgangsmåde

1. Sørg for, at en brugt flowcelle er indført i instrumentet.
2. Vælg **Perform Wash** (Udfør vask) på startsideen.
3. Vælg **Standby Wash** (Standby-vask) fra skærmen Wash Options (Muligheder for vask). Softwaren hæver automatisk sugerørene i reagenskøleren.

BEMÆRK! Brug altid ny vaskeopløsning til hvert vasketrin. Genbrug af vaskeopløsning fra den forrige vask kan medføre, at affald føres tilbage i fluidikledningerne.

Udfør første vask

1. Klargør en ny vaskeopløsning med Tween 20 og vand i laboratoriekvalitet på følgende måde:
 - a. Tilsæt 5 ml 100 % Tween 20 til 45 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i 10 % Tween 20.
 - b. Tilsæt 25 ml 10 % Tween 20 til 475 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i en 0,5 % Tween 20-vaskeopløsning.
 - c. Vend op og ned gentagne gange for at blande.
2. Klargør vaskekomponenterne med en frisk 0,5 % Tween 20-vaskeopløsning på følgende måde:
 - a. Tilsæt 6 ml vaskeopløsning i hvert reservoir i vaskebakken.
 - b. Tilsæt 350 ml vaskeopløsning til vaskeflasken på 500 ml.
3. Overfør vaskebakken og vaskeflasken til instrumentet:
 - a. Åbn døren til reagenskammeret og døren til reagenskøleren, og skub den brugte reagenskassette eller vaskebakke ud fra køleren.
 - b. Skub vaskebakken ind i reagenskøleren, indtil den stopper. Luk døren til reagenskøleren.
 - c. Hæv håndtaget til sugerøret foran flasken med MiSeqDx SBS- Solution (PR2) og affaldsflasken, indtil den låses på plads, og udskift flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2) med vaskeflasken.

BEMÆRK! Bortskaf flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2) efter hver kørsel. Eventuel resterende MiSeqDx SBS Solution (PR2) må ikke genanvendes.

- d. Tag vaskeflasken ud, og bortskaf indholdet korrekt. Sæt vaskeflasken tilbage i reagenskammeret.
 - e. Sænk langsomt håndtaget til sugerøret, og sørg for, at sugerørene sænkes ned i vaskeflasken og affaldsflasken.
 - f. Luk døren til reagenskammeret.
4. Vælg **Next** (Næste). Den første vask begynder.

Udfør den anden vask

1. Klargør en ny vaskeopløsning med Tween 20 og vand i laboratoriekvalitet på følgende måde:
 - a. Tilsæt 5 ml 100 % Tween 20 til 45 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i 10 % Tween 20.
 - b. Tilsæt 25 ml 10 % Tween 20 til 475 ml vand i laboratoriekvalitet. Disse voluminer resulterer i en 0,5 % Tween 20-vaskeopløsning.
 - c. Vend op og ned gentagne gange for at blande.
2. Fjern vaskebakken og vaskeflasken, og kasser den resterende vaskeopløsning, når den første vask er færdig.
3. Genopfyld vaskekomponenterne med frisk 0,5 % Tween 20-vaskeopløsning på følgende måde:
 - a. Tilsæt 6 ml vaskeopløsning i hvert reservoir i vaskebakken.
 - b. Tilsæt 350 ml vaskeopløsning til vaskeflasken på 500 ml.
4. Isæt vaskebakken og vaskeflasken på følgende måde:
 - a. Skub vaskebakken ind i reagenskøleren, indtil den stopper. Luk døren til reagenskøleren.
 - b. Overfør vandflasken, og sænk håndtaget til sugerøret langsomt, og sørg for, at sugerørene sænkes ned i vaskeflasken og affaldsflasken.
 - c. Luk døren til reagenskammeret.
5. Vælg **Next** (Næste). Den anden vask begynder.

Efter vasken

Når vasken er gennemført, skal du efterlade den brugte flowcelle, vaskebakke og vaskeflaske med den resterende vaskeopløsning på instrumentet.

BEMÆRK! Sugerørene forbliver nede, hvilket er normalt. Lad den ubrugte vaskeopløsning blive i vaskebakken og vaskeflasken for at forhindre, at sugerørene tørrer ud, og at der ikke kommer luft ind i systemet.

Nedlukning af instrumentet

Det er bedst at lade instrumentet være tændt hele tiden. Men hvis instrumentet skal slukkes, skal du anvende følgende procedure til at lukke Windows ned og klargøre fluidikledningerne.

1. Foretag en vedligeholdelsesvask. Se [Fremgangsmåde på side 29](#) for at få flere oplysninger.
2. Tag vaskeflasken ud, og bortskaf indholdet korrekt. Sæt vaskeflasken tilbage i reagenskammeret.
3. Luk døren til reagenskammeret.
4. Vælg **Shut Down Instrument** (Luk instrument ned) i hovedmenuen.
Denne kommando lukker instrumentsoftwaren.

5. Sæt til/fra-knappen på "slukket".

BEMÆRK! Hvis instrumentet er slukket, skal du vente *minimum* 60 sekunder, før du sætter til/fra-knappen på "tændt".

Fejlfinding

Introduktion

I dette afsnit beskrives de almindelige fejlfindingstrin, du skal følge, før du kontakter Illumina Technical Support. For de fleste fejl vises der en meddelelse på skærmen med instruktioner i at rette fejlen.

I tilfælde af tekniske spørgsmål henvises der til supportsiderne for MiSeqDx på Illumina-webstedet. Supportsiderne indeholder dokumentation, downloads og ofte stillede spørgsmål. Log på din MyIllumina-konto for at få adgang til supportmeddelelser.

Kontakt Illuminas tekniske support i tilfælde af problemer med kørselskvaliteten eller ydeevnen. Se [Teknisk hjælp på side 49](#) for at få flere oplysninger.

I forbindelse med fejlfinding anmoder Illumina Technical Support typisk om kørselsspecifikke filer. Du kan bruge funktionen Bundle Logs (Saml logs) på skærmen Manage Files (Administrer filer) til at samle og pakke de filer, der kræves til fejlfinding.

Saml logs til fejlfinding

Bundle Logs (Saml logs) er en funktion, der samler filer, som skal indsendes til Illumina Technical Support til fejlfinding. Brug fanen Bundle Logs (Saml logs) på skærmen Manage Files (Administrer filer) for at vælge en gruppe filer kaldet et *bundt*. Bundtet komprimeres automatisk.

Funktionen Bundle Logs (Saml logs) grupperer filerne fra en kørsel i ét bundt ad gangen. Gentag proceduren Bundle Logs (Saml logs) for hver kørsel, og saml anmodninger til Illumina Technical Support.

1. Vælg fanen Bundle Logs (Saml logs) på skærmen Manage Files (Administrer filer).
2. Vælg **Browse** (Gennemse) for at navigere til MiSeqOutput-mappens placering.
3. Markér feltet ud for kørslen.
4. Vælg **Bundle Logs** (Saml logs).

Skærmen Bundle Files (Saml filer) åbnes med oplysninger om bundtet, herunder en liste over de enkelte filer, som bundtet indeholder.

Du kan finde flere oplysninger om de enkelte mapper og filer i funktionen Bundle Logs (Saml logs) i *MiSeq Output and Analysis Folders Quick Reference Card (Oversigtsvejledning til MiSeq-output og analysemappe)* (dokumentnr. 15034791).

5. Vælg **Next** (Næste).
6. Naviger til en placering, hvor det komprimerede filbundt skal gemmes.
7. Vælg **Save** (Gem).

Fanen Bundle Logs (Saml logs) åbnes igen, når filerne er samlet.

- Send det komprimerede bundt til Illumina Technical Support.

Gennemførelse af systemkontrol

Nogle systemkontroller kan udføres, før du kontakter Illumina Technical Support, såsom volumentesten. En volumentest kontrollerer fluidiksystemets tilstand ved at estimere flowvolumen, når bobler passerer sensorerne. Se [Foretag en volumentest på side 41](#) for at få flere oplysninger.



FORSIGTIG

Testene Tip/Tilt (Tip/vip) og Full Optics (Fuld optik) kræver en særlig flowcelle og må kun udføres af en Illumina-tekniker.

- Vælg **System Check** (Systemkontrol) i hovedmenuen.
- Gør et af følgende:
 - Vælg de individuelle test, du vil udføre.
 - Vælg **Select All** (Vælg alle) for at udføre alle test.
- Vælg **Next** (Næste).
Når testen er færdig, vises resultaterne på skærmen.
- [Valgfrit] Vælg **Show Details** (Vis detaljer) for at se en oversigt over resultaterne på softwaregrænsefladen.
- [Valgfrit] Vælg **Export Results** (Eksportér resultater) for at eksportere resultaterne i et *.csv-filformat til et USB-drev.
- Vælg **Done** (Udført).

Stop en kørsel, eller sæt den på pause

MiSeqDx er designet til at fuldføre en kørsel fra start til slut uden brugerindblanding. Det er dog muligt at stoppe eller sætte en kørsel på pause fra skærmen Sequencing (Sekventering).

Sæt en kørsel på pause

Du kan sætte en kørsel på pause midlertidigt, inden den er afsluttet. Du kan eksempelvis sætte en kørsel på pause, hvis du mener, at affaldsflasken er fyldt. Kørsler på pause kan genoptages.

Når du vælger **Pause** (Pause), fuldføres den aktuelle kommando, før kørslen standses, og flowcellen sættes i en sikker tilstand.



FORSIGTIG

Sæt *ikke* en kørsel på pause under clustergenerering eller inden for de første fem cyklusser af sekventeringen. Det er ikke muligt at genoptage en kørsel, der er sat på pause i dette tidsrum.

Hvis du vil sætte en kørsel på pause fra skærmen Sequencing (Sekventering), skal du vælge **Pause** (Pause). Knappen skifter til **Resume** (Genoptag).

Vælg **Resume** (Genoptag), når du er klar til at genoptage kørslen.

Stop en kørsel

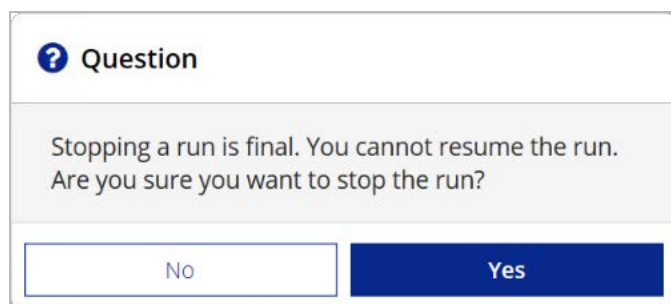
Du kan stoppe en kørsel under sekventering, inden kørslen er afsluttet, ved hjælp af knappen **Stop** (Stop) på skærmen Sequencing (Sekventering). Du vælger måske at stoppe en kørsel, hvis kørslen er konfigureret forkert, hvis datakvaliteten er dårlig, eller hvis du oplever en hardwarefejl.

Når en kørsel stoppes, fuldføres den aktuelle kommando ikke, og flowcelleholderen bevæger sig til den forreste position. Primære analyser fortsætter for den sidst afsluttede cyklus.

Hvis du vil standse en kørsel fra skærmen Sequencing (Sekventering), skal du vælge **Stop** (Stop).

Når en kørsel stoppes, fuldføres den aktuelle kommando ikke, og flowcelleholderen bevæger sig til den forreste position. Primære analyser fortsætter for den sidst afsluttede cyklus.

Figur 16 Standsning af en kørsel



Hvis en kørsel standses, kan den ikke genoptages. En standset kørsel kan ikke genoptages. Den eneste mulighed er at fortsætte til en instrumentvask.

Hæv reagenskassettenes sugerør manuelt

Reagenskassettenes sugerør hæves muligvis ikke automatisk, hvis en kørsel afbrydes uventet, eller hvis der opstår en fejl under kørslen. Hæv reagenskassettenes sugerør manuelt for at fjerne reagenskassetten.

1. Vælg **Perform Wash** (Udfør vask) på startsideen.
2. Vælg **Raise Sippers** (Hæv sugerør).
3. Fjern reagenskassetten.

Løs kørselskonfigurationsfejl

Hvis nogen kontroller i prækørselskontrollen mislykkes, vises der et rødt ikon **X** ved siden af dem.

Der vises en meddelelse på skærmen med en beskrivelse af fejlen, og hvordan den rettes.

Fejl	Handling
✗ Målt flowhastighed	<p>Skærmen til kontrol af flowhastighed åbnes. Indtast følgende ved hjælp af rullelisten eller skærmtastaturet:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Opløsning: PR2 • Volumen: 250 • Aspirationshastighed: 2500 • Dispenseringshastighed: 2500 <p>Vælg Pump (Pumpe). Hvis fejlen fortsætter, skal volumen indstilles til at pumpe 500 µl MiSeqDx SBS Solution (PR2) og processen gentages. Når væskerne er pumpet, skal du vælge Restart Check (Genstart kontrol). Når prækørselskontrollen er gennemført, bliver Start Run (Start kørsel) aktiv.</p> <p>Hvis flowkontrollen mislykkes igen, skal du genindsætte flowcellen for at sikre, at flowet ikke afbrydes på grund af en fejljustering. Kontrollér flowcellens tætning for fnug eller uregelmæssigheder.</p>
✗ Ledig diskplads	<p>Hvis der er lav diskplads, vises der en meddelelse, som angiver, hvor meget diskplads der kræves. Brug funktionen Manage Files (Administrér filer) til at rydde den nødvendige plads på instrumentcomputeren.</p>
✗ Netværksforbindelse aktiv	<p>Sørg for, at netværkskablet er sluttet til instrumentet.</p> <p>Hvis netværksforbindelsen ikke gendannes, skal du vælge Reboot (Genstart) på skærmen Manage Instrument (Administrér instrument) for at genstarte softwaren.</p> <p>Hvis forbindelsen stadig ikke gendannes, skal du vælge Shut Down (Luk ned) på skærmen Manage Instrument (Administrér instrument) og derefter slukke instrumentet på til/fra-knappen. Vent mindst 60 sekunder, og tænd derefter for instrumentet, og start softwaren.</p>
✗ Primær analyse klar	<p>Primær analyse fra den forrige kørsel er ikke færdig. Standardtiden for fuldførelse af den primære analyse er én time, og der vises en nedtælling på skærmen. Du kan vælge mellem at vente en time eller vælge Terminate Analysis (Afslut analyse). Sekundær analyse stopper for ikke-fuldførte cyklusser.</p>

Løs RFID-læsningsfejl

RFID-fejl udløses, hvis:

- Den overførte komponent ikke indgår i et *in-vitro*-diagnostisk sæt.
- Den overførte komponent ikke indgår i det sæt, der identificeres af Local Run Manager-modulet.
- Der er opstået en teknisk fejl ved læsningen af RFID-mærket på komponenten.

Følgende trin kan bruges til at løse RFID-fejl, som skyldes en teknisk fejl.

BEMÆRK! En diagnosekørsel må have én RFID-læsningsfejl. Hvis RFID-mærket for to materialer ikke kan læses, kan softwaren ikke fortsætte til næste trin i kørselskonfigurationen. Hvis denne fejl opstår, skal du kontakte Illumina Technical Support.

Flowcelle

1. Prøv altid RFID-læsningen igen, inden du fortsætter. Det gør du ved at åbne døren til flowcellekammeret og derefter lukke den igen.
2. Hvis RFID-læsningen mislykkes anden gang, skal du vælge **Get Code** (Hent kode). Kontakt Illumina Technical Support for at få en midlertidig RFID-tilsidesættelseskode. En midlertidig tilsidesættelseskode udløber efter syv dage.
3. Indtast den midlertidige tilsidesættelseskode ved hjælp af skærmtastaturet.
4. Vælg **Next** (Næste).
5. Indtast følgende oplysninger:
 - Stregkodennummeret på flowcellen, som findes på flowcellekammeret mærkat direkte under stregkoden
 - Flowcellens delnummer
6. Vælg **Next** (Næste) for at fortsætte til skærmen Load Flow Cell (Overfør flowcelle).
7. Vælg **Next** (Næste) for at fortsætte til næste trin i kørselskonfigurationen.

Flaske med MiSeqDx SBS Solution (PR2)

1. Prøv altid RFID-læsningen igen, inden du fortsætter. For at gøre dette skal du hæve og sænke håndtaget til reagenssugerøret.
2. Hvis RFID-læsningen mislykkes anden gang, skal du vælge **Get Code** (Hent kode). Kontakt Illumina Technical Support for at få en midlertidig RFID-tilsidesættelseskode. En midlertidig tilsidesættelseskode udløber efter syv dage.
3. Indtast den midlertidige tilsidesættelseskode ved hjælp af skærmtastaturet.
4. Vælg **Next** (Næste).
5. Indtast følgende oplysninger:
 - Stregkodennummeret på flasken med MiSeqDx SBS-opløsning (PR2), som findes direkte under stregkoden på etiketten på flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2)
 - Delnummeret på flasken med MiSeqDx SBS Solution (PR2)
6. Vælg **Next** (Næste) for at fortsætte til skærmen Load Reagents (Overfør reagenser).
7. Vælg **Next** (Næste) for at fortsætte til næste trin i kørselskonfigurationen.

Reagenskassette

1. Prøv altid RFID-læsningen igen, inden du fortsætter. Det gør du ved at åbne og lukke døren til reagenskøleren.

2. Hvis RFID-læsningen mislykkes anden gang, skal du vælge **Get Code** (Hent kode). Kontakt Illumina Technical Support for at få en midlertidig RFID-tilsidesættelseskode. En midlertidig tilsidesættelseskode udløber efter syv dage.
3. Indtast den midlertidige tilsidesættelseskode ved hjælp af skærmtastaturet.
4. Vælg **Next** (Næste).
5. Indtast følgende oplysninger:
 - Reagenssættets stregkodennummer, som findes på mærkaten direkte under stregkoden
 - Reagenssættets delnummer
6. Vælg **Next** (Næste) for at vende tilbage til skærmen Load Reagents (Overfør reagenser).
7. Vælg **Next** (Næste) for at fortsætte til næste trin i kørselskonfigurationen.

Undgå genstarter under en kørsel

Hvis MiSeqDx genstarter under en kørsel, kan det skyldes, at Windows Update-softwaren på netværket er konfigureret til automatisk at installere softwareopdateringer. Denne indstilling skulle have været deaktiveret under installationen. Kontakt den lokale it-afdeling for at få hjælp til at deaktivere automatisk opdatering af Windows-operativsystemet, som kører i baggrunden på MiSeqDx.

Foretag fejlfinding af strømningshastighedsfejl

Strømningshastigheden er den hastighed, med hvilken væsker passerer gennem fluidiksystemet ($\mu\text{l}/\text{min}$). Den måles før hver kørsel under prækørselskontrollerne. Hvis systemet ikke er i stand til at måle strømningshastigheden, skal der pumpes en volumen reagens (MiSeqDx SBS Solution (PR2)) gennem systemet, inden strømningshastigheden kontrolleres igen.

1. Indtast følgende oplysninger ved hjælp af rullelisten eller skærmtastaturet:
 - Opløsning: **PR2**
 - Volumen: **250 μl**
 - Aspirationshastighed: **2500 $\mu\text{l}/\text{min}$**
 - Dispenseringshastighed: **2500 $\mu\text{l}/\text{min}$**
2. Vælg **Pump** (Pumpe).
3. Vælg **Restart Check** (Genstart kontrol), når pumpetrinnet er afsluttet.
4. Hvis fejlen fortsætter, skal volumen indstilles til at pumpe 500 μl MiSeqDx SBS Solution (PR2) og processen gentages en gang mere. Kontakt Illumina Technical Support, hvis fejlen ikke løses i andet forsøg.

Foretag en volumentest

En blokering i fluidiklinjerne kan forringe reagensleveringen og påvirke sekventeringsresultaterne. Ved mistanke om en blokering i fluidiklinjerne skal der foretages en volumentest.

En volumentest kontrollerer fluidiksystemets tilstand ved at estimere volumen mellem to bobler, når de passerer sensorerne. For at foretage en volumentest skal vaskebakken og vaskeflasken være fyldt med vand i laboratoriekvalitet, og en brugt flowcelle skal være på plads. Følg instruktionerne på skærmen for at foretage testen.

1. Sørg for, at en brugt flowcelle er indført i instrumentet.
2. Vælg **System Check** (Systemkontrol) i hovedmenuen.
3. Vælg **Conduct Volume Test** (Udfør volumentest), og vælg derefter **Next** (Næste).
4. Fyld hvert reservoir i vaskebakken med 6 ml vand i laboratoriekvalitet.
5. Fyld vaskeflasken på 500 ml med 350 ml vand i laboratoriekvalitet.
6. Overfør vaskebakken og vaskeflasken til instrumentet.
 - a. Åbn døren til reagenskammeret og døren til reagenskøleren, og skub vaskebakken ind i reagenskøleren, indtil den stopper. Luk døren til reagenskøleren.
 - b. Hæv håndtaget til sugerøret, indtil det låses på plads, og overfør vaskeflasken.
 - c. Tag vaskeflasken ud, og bortskaf indholdet korrekt. Sæt vaskeflasken tilbage i reagenskammeret.
 - d. Sænk langsomt håndtaget til sugerøret, og sørg for, at sugerørene sænkes ned i vaskeflasken og affaldsflasken.
7. Følg instruktionerne på skærmen, og fjern eventuelle dråber fra sugerøret i vaskeflasken på følgende måde:
 - a. Når du bliver bedt om det, skal du langsomt hæve håndtaget til sugerøret og kontrollere, om der er en stor vanddråbe i sugerøret i vaskeflasken.
 - b. Når du bliver bedt om det, skal du langsomt sænke håndtaget til sugerøret så langt ned i vandet, så overfladespændingen fjerner dråben.
 - c. Når du bliver bedt om det, skal du langsomt hæve håndtaget til sugerøret og kontrollere, om der er en stor vanddråbe i sugerøret i vaskeflasken.
 - d. Når du bliver bedt om det, skal du langsomt sænke håndtaget til sugerøret helt ned og sørge for, at sugerørene sænkes ned i vaskeflasken og affaldsflasken.
8. Vælg **Next** (Næste). Volumentesten starter.

Når volumentesten er færdig, vises resultaterne på skærmen.

Hvis testen ikke er bestået, skal du udføre en vedligeholdelsesvask. Se [Fremgangsmåde på side 29](#).
9. Gentag volumentesten, når vedligeholdelsesvasken er færdig.

Løs temperaturfejl i reagenskøleren

Det nødvendige temperaturinterval i reagenskøleren er 2 °C til 11 °C. En sensorindikator viser temperaturen i reagenskøleren. Se [Sensorindikatorer på side 5](#).

Hvis du får en fejlmeddelelse om, at køleren er uden for det angivne temperaturinterval, skal du kontakte Illumina Technical Support.

Hvis reagenskølertemperaturen er uden for intervallet, kan det forhindre start af sekventeringskørsel. Hvis du får en fejlmeddelelse under en sekventeringskørsel, skal du fuldføre kørslen.

Du kan finde flere oplysninger om reagenskøleren i [Reagenskammer på side 3](#).

Løs analysefejl i Local Run Manager

Kontakt Illumina Technical Support for at få fejlfindingsoplysninger i tilfælde af analysefejl. *Local Run Manager v3 Software Reference Guide for MiSeqDx (Oversigtsvejledning til softwaren Local Run Manager til MiSeqDx) (dokumentnr. 200003931)* indeholder instruktioner om genindsættelse i analysekø.

Konfigurer systemindstillinger

MOS indeholder faner, der giver adgang til kommandoer til at konfigurere systemet.

- IP- og DNS-indstillingerne konfigureres på IP-fanen. Denne funktion kræver adgang på Windows-administratorniveau.
- Netværks- og opstartsindstillingerne konfigureres på følgende faner:
 - Network Credentials (Netværkslegitimationsoplysninger) – Denne funktion kræver adgang på Windows-administratorniveau.
 - Start-Up Options (Startindstillinger) – Denne funktion kræver adgang på Local Run Manager-administratorniveau.

Disse systemindstillinger konfigureres typisk under installation af MiSeqDx.

Konfiguration af IP- og DNS-indstillinger

Du kan om nødvendigt konfigurere IP-adressen og DNS-serveradresserne på grund af en netværks- eller facilitetsændring. Denne funktion kræver adgang på Windows-administratorniveau.

1. Vælg **System Settings** (Systemindstillinger) fra hovedmenuen.
2. Vælg IP-fanen, og vælg derefter mellem følgende indstillinger for at konfigurere IP-adressen:
 - **Obtain an IP address automatically** (Få en IP-adresse automatisk) – Vælg denne mulighed for at få IP-adressen fra DHCP-serveren (Dynamic Host Configuration Protocol).

BEMÆRK! Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP) er en standardnetværksprotokol, der automatisk tildeler dynamiske IP-adresser til enhederne på et netværk.

- **Use the following IP address** (Brug følgende IP-adresse) – Vælg denne mulighed for at forbinde instrumentet til en anden server manuelt på følgende måde. Kontakt din netværksadministrator for at få de specifikke adresser til den pågældende facilitet.
 - Indtast IP-adressen. IP-adressen består af fire tal, der er adskilt af punktummer, for eksempel 168.62.20.37.
 - Indtast undernetmasken, som er en undergruppe i IP-netværket.
 - Indtast standardgatewayen, som er den router på netværket, der forbinder til internettet.
3. Vælg en af følgende indstillinger for at konfigurere DNS-adressen:
 - **Obtain a DNS address automatically** (Hent automatisk en DNS-serveradresse) – Læser den DNS-adresse, der er forbundet med IP-adressen.
 - **Use the following DNS addresses** (Brug følgende DNS-adresser) – Forbinder instrumentet med en server, der oversætter domænenavne til IP-adresser.
 - Indtast den foretrukne DNS-adresse. DNS-adressen er det servernavn, der anvendes til at oversætte domænenavne til IP-adresser.
 - Indtast den alternative DNS-adresse. Den alternative adresse bliver anvendt, hvis den foretrukne DNS ikke kan oversætte et bestemt domænenavn til en IP-adresse.
 4. Vælg **Save** (Gem).

Konfiguration af netværks- og opstartsindstillinger

Konfigurer netværks- og opstartsindstillingerne på fanen Network Credentials (Netværksoplysninger) (denne funktion kræver adgang på Windows-administratorniveau) og fanen Start-Up Options (Opstartsmuligheder) (denne funktion kræver adgang på Local Run Manager-administratorniveau).

1. Vælg **System Settings** (Systemindstillinger) fra hovedmenuen.
2. Vælg fanen Network Credentials (Netværksoplysninger), og konfigurer derefter netværksindstillingerne på følgende måde.
3. Maskinens navn tildeles instrumentcomputeren på fremstillingstidspunktet. Det er normalt ikke nødvendigt at ændre maskinnavnet. Ændring af maskinnavnet på denne skærm kan påvirke forbindelsen og kræve en netværksadministrators brugernavn og adgangskode.
Maskinens navn er registreret som instrumentnavnet i output fra Local Run Manager softwaren.
4. Forbind instrumentcomputeren til et domæne eller en arbejdsgruppe, som følger.
 - **For instrumenter, der er forbundet til internettet** – Vælg **Domain** (Domæne), og indtast så det domænenavn, der er knyttet til internetforbindelsen på den pågældende facilitet.
 - **For instrumenter, der ikke er forbundet til internettet** – Vælg **Workgroup** (Arbejdsgruppe), og indtast derefter et arbejdsgruppenavn.
5. Vælg IP-fanen, og vælg derefter mellem følgende indstillinger:
 - **Kiosk Mode** (Kiosktilstand) – Viser kontrolsoftwarens grænseflade i fuld skærmvisning. Softwaren er udviklet til brug i kiosktilstand.
 - **Windows Mode** (Windows-tilstand) – Giver adgang til Windows på instrumentcomputeren. I denne tilstand kan interaktionen med softwareinterfacet, for eksempel placeringen af en knap, være anderledes.
6. Vælg **Save** (Gem).

Outputmapper

Kørselsmapper

Hver kørsel på MiSeqDx genererer tre kørselsmapper, som hver har et specifikt formål:

- **D:\Illumina\MiSeqTemp** – Når kørslen begynder, skrives der en midlertidig kørselsmappe til det lokale drev på instrumentcomputeren, som bruges som arbejdsområde for MOS og RTA. Der er ikke behov for adgang til Temp-mappen. Indholdet af denne mappe slettes efter syv dage.
- **D:\Illumina\MiSeqOutput** – RTA kopierer filer fra Temp-mappen til Output-mappen. Efterhånden som de primære analysefiler genereres, kopierer RTA filerne tilbage til Temp-mappen og udfylder Analysis-mappen. Fokusbilleder og miniaturebilleder kopieres ikke til Analysis-mappen.
- **D:\Illumina\MiSeqAnalysis** – Når den primære analyse er færdig, går Local Run Manager til Analysis-mappen på instrumentets lokale drev for at starte sekundær analyse. Alle filer, der skrives til Analysis-mappen, kopieres til Output-mappen.

Navngivning af rodmappe

Navnet på rod-kørselsmappen identificerer datoen for kørslen, instrumentnummeret og den flowcelle, der bruges til kørslen. Alle kørselsmapper har det samme rod-mappenavn for hver enkelt kørsel.

Mappenavnet har som standard følgende format:

ÅÅMMDD_<InstrumentNumber>_<Run Number>_A<FlowCellBarcode>

Kørselsnummeret stiger med én, hver gang der gennemføres en kørsel på et givet instrument.

Indeks

A

- administrer instrument
 - arbejdsgruppe 44
 - domæne 44
 - domænenavn 43
 - IP- og DNS-adresse 43
 - maskinnavn 44
 - opstartsmuligheder 44
 - systemindstillinger 43
- affaldsflaske 3
- arbejdsgang
 - kørselsvarighed 12
- arbejdsgruppenavn 44

B

- brugerleverede materialer 11
- bundle logs 35

C

- clusterdensitet 21
- clustergenerering 23
- cyklusser i en læsning 12

D

- diskplads
 - kontrol 5
 - lav diskplads 37
- DNS-adresse 43
- dokumentation 49
- domænenavn 43-44

E

- e-mailpåmindelser 10

F

- fejlfinding
 - bundle logs 35
 - fluidik 41
 - kørselskonfigurationsfejl 37
 - kørselsspecifikke filer til 35
 - RFID 39
 - strømningshastighed 40
- flowcelle
 - overførsel 16
 - oversigt 2
 - rengøring 15
- flowcellekammer 1-2
- flowcellelås 2
- flowcellens dørsensor 5
- fluidik
 - fejlfinding 40-41
 - vask 28, 31
- forskningstilstand 6

G

- genstart 6
- genstart til forskningstilstand 6

H

- hjælp, teknisk 49
- håndtag til sugerør 3

I

- ikoner
 - sensorer 5
- Illumina Proactive-overvågningservice 9
- instrumentydelsesdata 9
- intensiteter 23
- IP-adresse 43

K

kiosktilstand 44
klargøring af instrumentet til inaktivitet 31
komponenter
 flowcelle 2
 flowcellekammer 1-2
 optisk modul 1
 reagenskammer 1, 3
kundesupport 49
kørselsmapper
 navngivning 45
 temp, output, analyse 45
kørselsmuligheder 8-10
kørselsvarighed 12

L

Local Run Manager-software 3, 5
læsningslængde 12

M

materialer
 brugerleverede 11
 Illumina-leveret 10
 laboratorievand 11
MiSeq Operating System-software 3

N

nedlukning af instrumentet 28, 33
netværksforbindelse 37
netværksindstillinger 43

O

optisk modul 1
overførsel af reagenser
 kassette 19
 PR2 18
 SBS Solution 18
overvågning af kørslen 21

P

passering af filter (PF) 23
politikker for softwarebegrænsning 6
PR2, overførsel 18
prøveark 37

Q

Q-scorer 21, 23

R

reagenser
 sæt 10
reagenskammer 1, 3
reagenskøler, temperatur 5
Real-Time Analysis-software 3
 kørselsmappe 45
 skabelongenerering 23
retningslinjer for laboratorievand 11
RFID
 fejlfinding 39
 flowcelle 16
 PR2 18
 reagenskassette 19
 SBS Solution 18

S

SBS Solution, overførsel 18
sekventeringscyklusser 23
sekventeringsskærm 21
sensorindikatorer 5
skabelongenerering 23
software
 diskpladskontrol 5
 kørselsvarighed 12
 Local Run Manager 3, 5
 MiSeqDx Operating Software 3
 på instrument 3
 Real-Time Analysis 3
SRP 6

standby-vask 32
standsning af en kørsel 37
start kørsel 9
strømningshastighed, fejlfinding 40
systemindstillinger 9, 42-44
sætte en kørsel på pause 36

T

teknisk assistance 49

V

vask efter kørsel 23, 28
vaske
 efter kørsel 23
 forbered til inaktivitet 31
 fordele ved 23, 28
 indstillinger for vask efter kørsel 8, 10
 klargør til nedlukning 33
 standby 28, 32
 vedligeholdelse 8, 10, 28
vedligeholdelsesvask 28
volumentest 41

W

windows-tilstand 44

Teknisk hjælp

Kontakt Illuminas tekniske support for at få teknisk hjælp.

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

Telefonnumre til Illuminas tekniske support

Område	Gratis	Internationalt
Australien	+61 1800 775 688	
Belgien	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
Canada	+1 800 809 4566	
Danmark	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
Filippinerne	+63 180016510798	
Finland	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
Frankrig	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
Holland	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
Hongkong, Kina	+852 800 960 230	
Indien	+91 8006500375	
Indonesien		0078036510048
Irland	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
Italien	+39 800 985513	+39 236003759
Japan	+81 0800 111 5011	
Kina		+86 400 066 5835
Malaysia	+60 1800 80 6789	
New Zealand	+64 800 451 650	
Norge	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
Schweiz	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
Singapore	1 800 5792 745	
Spanien	+34 800 300 143	+34 911 899 417
Storbritannien	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197

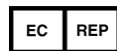
Område	Gratis	Internationalt
Sverige	+46 2 00883979	+46 8 50619671
Sydkorea	+82 80 234 5300	
Taiwan, Kina	+886 8 06651752	
Thailand	+66 1800 011 304	
Tyskland	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
USA	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
Vietnam	+84 1206 5263	
Østrig	+43 800 006249	+43 1 9286540

Sikkerhedsdatablade (SDS'er) – kan findes på Illuminas websted på support.illumina.com/sds.html.

Produktdokumentation – kan downloades på support.illumina.com.



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (uden for Nordamerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

Australsk sponsor

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

KUN TIL IN VITRO-DIAGNOSTIK

© 2021 Illumina, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

illumina[®]