

MiSeqDx-Gerät

Referenzhandbuch für MOS v4

Dieses Dokument und dessen Inhalt sind Eigentum von Illumina, Inc. sowie deren Partner-/Tochterunternehmen („Illumina“) und ausschließlich für den bestimmungsgemäßen Gebrauch durch den Kunden in Verbindung mit der Verwendung des hier beschriebenen Produkts/der hier beschriebenen Produkte und für keinen anderen Bestimmungszweck ausgelegt. Dieses Handbuch und dessen Inhalt dürfen ohne schriftliches Einverständnis von Illumina zu keinem anderen Zweck verwendet, verteilt bzw. anderweitig übermittelt, offengelegt oder auf irgendeine Weise reproduziert werden. Illumina überträgt mit diesem Dokument keine Lizenzen unter seinem Patent, Markenzeichen, Urheberrecht oder bürgerlichem Recht bzw. ähnlichen Rechten an Drittparteien.

Die Software ist lizenziert unter den Bestimmungen und Bedingungen der Illumina Sequenzierungs-Software-Lizenzvereinbarung in einem separaten Dokument. Wenn Sie nicht mit den darin festgelegten Bestimmungen und Bedingungen einverstanden sind, lizenziert Illumina diese Software nicht an Sie und Sie dürfen die Software weder installieren noch verwenden.

Die Anweisungen in diesem Dokument müssen von qualifiziertem und entsprechend ausgebildetem Personal genau befolgt werden, damit die in diesem Dokument beschriebene Anwendung der Produkte sicher und ordnungsgemäß erfolgt.

Vor der Verwendung dieser Produkte muss der Inhalt dieses Dokuments vollständig gelesen und verstanden worden sein.

FALLS NICHT ALLE HIERIN AUFGEFÜHRTE ANWEISUNGEN VOLLSTÄNDIG GELESEN UND BEFOLGT WERDEN, KÖNNEN PRODUKTSCHÄDEN, VERLETZUNGEN DER BENUTZER UND ANDERER PERSONEN SOWIE ANDERWEITIGER SACHSCHADEN EINTRETEN.

ILLUMINA ÜBERNIMMT KEINERLEI HAFTUNG FÜR SCHÄDEN, DIE AUS DER UNSACHGEMÄSSEN VERWENDUNG DER HIERIN BESCHRIEBENEN PRODUKTE (EINSCHLIESSLICH TEILEN HIERVON ODER DER SOFTWARE) ENTSTEHEN, ODER JEDER ANDEREN ART DER VERWENDUNG DER PRODUKTE AUSSERHALB DES GÜLTIGKEITSBEREICHES DER AUSDRÜCKLICHEN SCHRIFTLICHEN LIZENZEN ODER DER DURCH ILLUMINA GENEHMIGTEN ZULASSUNGEN IN VERBINDUNG MIT DEM ERWERB DER PRODUKTE DURCH DEN KUNDEN.

© 2021 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Eigentümer. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.

Diese Software enthält die SeqAn-Bibliothek, die an Illumina lizenziert wurde und unter folgender Lizenz verteilt wird:

Copyright © 2010, Knut Reinert, FU Berlin, Alle Rechte vorbehalten. Die Weitergabe und die Verwendung des Quellcodes und des Binärformats, ob mit oder ohne Änderungen, sind gestattet, wenn die folgenden Bedingungen erfüllt sind:

Der weitergegebene Quellcode muss den obigen Urheberrechtsvermerk, diese Liste der Bedingungen und den folgenden Haftungsausschluss enthalten.

Das weitergegebene Binärformat muss den obigen Urheberrechtsvermerk, diese Liste der Bedingungen und den folgenden Haftungsausschluss in der Dokumentation und/oder in weiteren Materialien enthalten, die im Rahmen der Weitergabe bereitgestellt werden.

Weder der Name der FU Berlin, der Name „Knut Reinert“ noch die Namen seiner Mitarbeiter dürfen als Befürworter von Produkten oder zur Werbung für Produkte verwendet werden, die von dieser Software abgeleitet sind.

DIE SOFTWARE WIRD VON DEN URHEBERRECHTSINHABERN UND DEREN MITARBEITERN OHNE MÄNGELGEWÄHR GELIEFERT, OHNE GARANTIE JEDWEDER ART, WEDER AUSDRÜCKLICH NOCH IMPLIZIT, EINSCHLIESSLICH DER, ABER NICHT BESCHRÄNKT AUF DIE IMPLIZITEN GARANTIE DER MARKTGÄNGIGKEIT UND DER EIGNUNG FÜR EINEN BESTIMMTEN ZWECK. IN KEINEM FALL SIND DIE URHEBERRECHTSINHABER ODER DEREN MITARBEITER FÜR IRGENDWELCHE DIREKTEN, INDIREKTEN, BEILÄUFIG ENTSTANDENEN ODER SPEZIELLEN SCHÄDEN, SCHADENERSATZFORDERUNGEN MIT STRAFZWECK ODER FOLGESCHÄDEN HAFTBAR (DIES GILT INSBESONDERE FÜR DIE BESCHAFFUNG VON ERSATZGÜTERN ODER -DIENSTLEISTUNGEN, NUTZUNGSAusFALL, DATENVERLUST, ENTGANGENE GEWINNE ODER GESCHÄFTSUNTERBRECHUNGEN), GANZ GLEICH, WIE DIESE VERURSACHT WURDEN UND WELCHER HAFTUNGSTHEORIE SIE UNTERLIEGEN, SEI DIES VERTRAGS-, GEFÄHRDUNGS- ODER DELIKTHAFTUNG (EINSCHLIESSLICH FAHRLÄSSIGKEIT ODER SONSTIGES), DIE AUF IRGENDWEISE DURCH DIE BENUTZUNG DIESER SOFTWARE ENTSTEHEN, SELBST WENN DIE MÖGLICHKEIT SOLCHER SCHÄDEN MITGETEILT WURDE.

Versionshistorie

Dokument-Nr.	Datum	Beschreibung der Änderung
Dokument-Nr. 1000000157953 v00	November 2021	Erste Version zur Unterstützung von MOS v4.0 und Local Run Manager v3.0.

Inhaltsverzeichnis

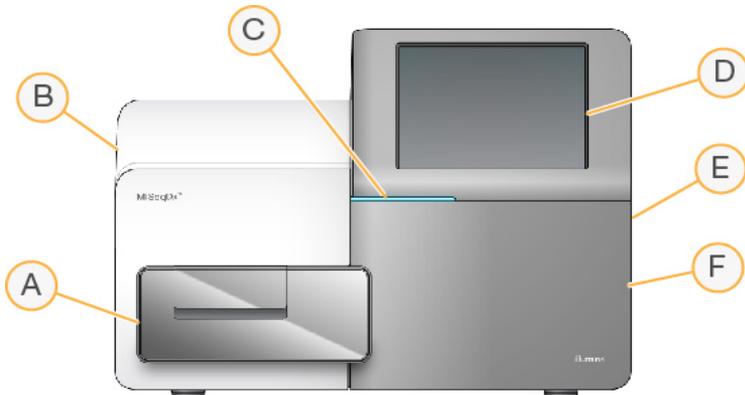
Versionshistorie	iii
Überblick	1
Komponenten	1
MiSeqDx-Software	3
Local Run Manager-Software	5
Erforderlicher Speicherplatz	5
Richtlinien für Softwareeinschränkung	6
Virenschutzsoftware	6
Sequenzierungsmodus	6
Erste Schritte	9
Starten des MiSeqDx	9
Festlegen der Nachwaschungsoption	10
Festlegen der Option zum automatischen Start eines Laufs	10
Aktivieren von Illumina Proactive Support	10
Festlegen von E-Mail-Voreinstellungen	11
Festlegen des Standardspeicherorts des Ausgabeordners	11
Erforderliche Verbrauchsmaterialien	12
Lagerung und Handhabung	13
Sequenzierung	14
Einleitung	14
Dauer des Laufs	14
Clusterbildung	14
Sequenzierung	14
Analyse	15
Vorbereiten der Reagenzienkartusche	15
Anmelden und Befolgen der Eingabeaufforderungen für die Sequenzierung	17
Reinigen der Fließzelle	17
Laden der Fließzelle	19
Laden von Reagenzien	21
Überwachen des Laufs	23
Durchführen einer Nachwaschung	25
Wartung	30
Wartungshäufigkeit	30

Präventive Wartung	30
Durchführen eines Wartungswaschlaufs	30
Durchführen eines Standbywaschlaufs	33
Ausschalten des Geräts	36
Fehlerbehebung	37
Einleitung	37
Bundle Logs (Protokollbündel) für die Fehlerbehebung	37
Durchführen einer Systemprüfung	38
Unterbrechen oder Anhalten eines Laufs	38
Manuelles Anheben der Sipper einer Reagenzienkartusche	40
Beheben von Laufkonfigurationsfehlern	40
Beheben von RFID-Lese Fehlern	41
Verhindern von Neustarts während eines Laufs	43
Fehlerbehebung bei Fließratenfehlern	43
Durchführen eines Volumentests	43
Beheben von Temperaturfehlern des Reagenzienkühlers	44
Beheben von Local Run Manager-Analysefehlern	45
Konfigurieren der Systemeinstellungen	45
Ausgabeordner	48
Laufordner	48
Index	49
Technische Unterstützung	52

Überblick

Komponenten

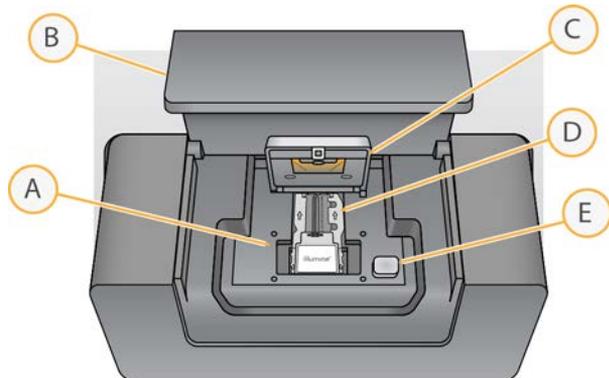
Das MiSeqDx verfügt über die folgenden externen Komponenten:



- A. **Fließzellenkammer:** Enthält den Fließzellentisch, auf dem sich die Fließzelle während des Laufs befindet. Der Fließzellentisch wird durch Motoren gesteuert, die den Tisch für das Laden der Fließzelle aus dem gekapselten Optikmodul herausfahren und ihn zurückfahren, wenn der Lauf beginnt.
- B. **Gekapseltes Optikmodul:** Enthält optische Komponenten, die die Bildgebung der Fließzelle ermöglichen.
- C. **Statusleiste:** Zeigt den Status der Fließzelle an: bereit für die Sequenzierung (grün), in Verarbeitung (blau) oder erfordert Überprüfung (orange).
- D. **Touchscreen-Monitor:** Zeigt die Oberfläche der Steuerungssoftware für die System- und Laufkonfiguration an.
- E. **Externer USB-Anschluss:** Ermöglicht über den Touchscreen-Monitor die Übertragung von Dateien und Daten auf den Gerätecomputer.
- F. **Reagenzienkammer:** Enthält Reagenzien bei geeigneten Temperaturen, Waschlösungen und eine Flasche für verbrauchte Reagenzien. Ein Magnetverschluss sichert die Klappe der Reagenzienkammer.

Die MiSeqDx-Benutzeroberfläche führt Sie durch die Schritte zur Laufkonfiguration über den Touchscreen-Monitor. Zum Laden der Laufkomponenten müssen Sie auf die Reagenzienkammer und die Fließzellenkammer zugreifen können.

Fließzellenkammer

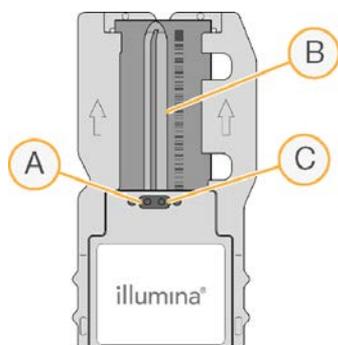


- A. Fließzellentisch
- B. Klappe der Fließzellenkammer
- C. Fließzellenriegel
- D. Fließzelle
- E. Freigabeknopf des Fließzellenriegels

In der Fließzellenkammer sind der Fließzellentisch, die thermische Station und die Fluidikanschlüsse für die Fließzelle untergebracht. Der Fließzellentisch hält die Fließzelle und der Fließzellenriegel sichert und positioniert die Fließzelle. Wenn der Fließzellenriegel schließt, wird die Fließzelle durch zwei Stifte in der Nähe des Verriegelungsscharniers automatisch positioniert.

Die thermische Station unter dem Fließzellentisch steuert die für die Clusterbildung und die Sequenzierung erforderlichen Änderungen der Fließzellentemperatur.

Fließzelle



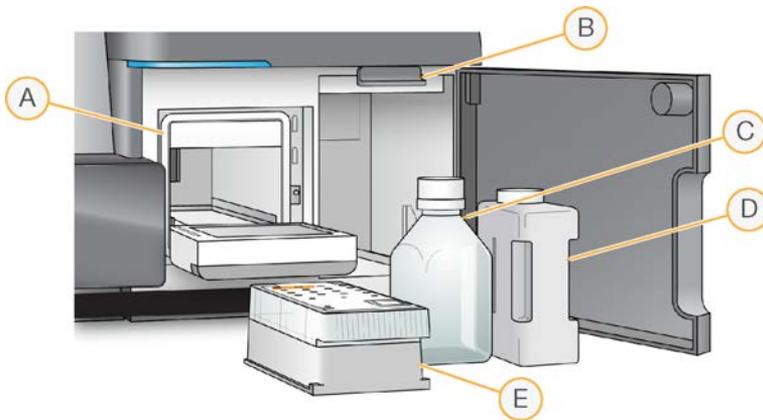
- A. Auslassanschluss
- B. Bildgebungsbereich
- C. Einlassanschluss

Die MiSeqDx-Fließzelle ist ein Glasträger zur einmaligen Verwendung, auf dem die Clusterbildung und die Sequenzierungsreaktion stattfinden.

Reagenzien werden der Fließzelle durch den Einlassanschluss zugeführt, passieren den Bildgebungsbereich der einzelnen Lane und verlassen die Fließzelle durch den Auslassanschluss. Abfälle werden beim Verlassen der Fließzelle in die Abfallflasche transportiert.

Während des Sequenzierungslaufs wird die einzelne Lane in kleinen Bildgebungsbereichen aufgenommen, die als Platten bezeichnet werden.

Reagenzienkammer



- A. Reagenzienkühler
- B. Sipper-Griff (in angehobener Position dargestellt)
- C. Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2)
- D. Abfallflasche
- E. Reagenzienkartusche

In der Reagenzienkammer befinden sich der Reagenzienkühler sowie Positionen für die Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) und die Abfallflasche.

Während des Laufs enthält der Reagenzienkühler eine Einweg-Reagenzienkartusche. Während des Gerätewaschlaufs enthält der Reagenzienkühler die Waschablage. Die Software senkt, je nachdem, welcher Prozess gerade ausgeführt wird, zum passenden Zeitpunkt während eines Laufs automatisch Sipper in die einzelnen Behälter der Reagenzienkartusche ab.

Rechts neben dem Reagenzienkühler befinden sich zwei formschlüssige Aussparungen, eine für die Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) und eine für die Abfallflasche. Der Sipper-Griff arretiert die Flaschen in ihrer Position und senkt den entsprechenden Sipper in die jeweilige Flasche ab.

Reagenzien werden durch die Sipper und die Fluidikleitungen und anschließend durch die Fließzelle gepumpt. Reagenzienabfall wird während des gesamten Prozesses in die Abfallflasche abgegeben.

MiSeqDx-Software

Die Gerätesoftware-Suite umfasst integrierte Anwendungen für die Durchführung von Sequenzierungsläufen, die Geräteanalyse und zugehörige Funktionen.

- **MiSeq Operating Software (MOS):** Steuert den Betrieb des Geräts. Die Benutzeroberfläche der MiSeq Operating Software (MOS) führt Sie durch die Schritte zum Laden der Fließzelle und der Reagenzien vor Beginn des Laufs. Während der Durchführung des Laufs wird ein Überblick über Qualitätsstatistikwerte angezeigt. Die Software ist auf dem Gerät installiert und wird darauf ausgeführt.
- Während des Laufs steuert die MOS den Fließzellentisch, verteilt Reagenzien, kontrolliert die Fließzellentemperaturen und nimmt Bilder von Clustern auf der Fließzelle auf. MOS führt den Lauf gemäß den in der Local Run Manager-Software angegebenen Parametern durch.
- **Real-Time Analysis(RTA)-Software:** Führt die Bildanalyse und das Base-Calling durch und weist jeder Base für jeden Zyklus einen Qualitäts-Score zu. Bilder werden zur Verarbeitung durch RTA vorübergehend im Laufordner gespeichert und anschließend nach Abschluss der RTA-Analyse automatisch gelöscht.
- **Local Run Manager-Software:** Eine im Gerät integrierte Lösung zum Erstellen eines Laufs, Überwachen des Status, Analysieren der Sequenzierungsdaten und Anzeigen der Ergebnisse. Zudem überwacht Local Run Manager Probeninformationen und verwaltet die Benutzerberechtigungen. Die Software läuft auf dem Gerätecomputer und wird über einen Webbrowser angezeigt. Siehe [Local Run Manager-Software auf Seite 5](#).

Statussymbole

Wenn das Gerät initialisiert oder gestartet wird, zeigt ein Statussymbol auf der Oberfläche der Steuerungssoftware eine Änderung der Bedingungen an. Eine Zahl auf dem Symbol zeigt die Anzahl der Zustände für einen Status an.

Ändert sich der Laufstatus, blinkt das Symbol, um Sie zu warnen. Wählen Sie das Symbol, um eine Beschreibung der Zustände anzuzeigen. Wählen Sie **Acknowledge** (Bestätigen), um die Meldung zu löschen, und dann **Close** (Schließen), um das Dialogfeld zu schließen.

Filtern Sie die Typen der Meldungen, die im Statusfenster angezeigt werden, indem Sie die Symbole am oberen Fensterrand auswählen. Wenn Sie ein Symbol auswählen, wird die Bedingung angezeigt bzw. ausgeblendet.

Statussymbol	Statusname	Beschreibung
	Status OK	Keine Änderung. Das System funktioniert normal.
	Warning (Warnung)	Bei einer Warnung wird ein Lauf nicht angehalten. Bei einigen Warnungen sind jedoch Maßnahmen erforderlich, bevor der Lauf fortgesetzt wird.
	Error (Fehler)	Fehler stoppen einen Lauf in der Regel und erfordern im Allgemeinen eine Aktion, bevor der Lauf fortgesetzt werden kann.

Sensoranzeigen

Im unteren Bereich jedes Bildschirms in der Benutzeroberfläche befinden sich drei Sensoranzeigen, die jeweils den Status einer Gerätekomponente darstellen.

Abbildung 1 Sensoranzeigen



Die Sensoranzeigen stehen von links nach rechts für die folgenden Komponenten:

- Temperatur des Reagenzienkühlers in °C
- Temperatur der Fließzelle in °C

Local Run Manager-Software

Die Local Run Manager-Software ist eine im Gerät integrierte Lösung zum Erfassen von Proben für Läufe, zum Angeben von Laufparametern, zum Überwachen von Status, zum Analysieren von Sequenzierungsdaten und zum Anzeigen der Ergebnisse.

Darüber hinaus steuert Local Run Manager die Benutzerauthentifizierung und gewährt Benutzern verschiedene Zugriffsberechtigungen. Berechtigungen werden in einer Datenbankdatei gespeichert, auf die das MiSeqDx-Gerät zugreift. Local Run Manager kann auch den Sequenzierungslauf überwachen. Weitere Informationen finden Sie in *Local Run Manager v3 Software Reference Guide for MiSeqDx (Dokument-Nr. 200003931)* (Local Run Manager v3 Software-Referenzhandbuch für MiSeqDx).

Sequenzierung während der Analyse

Die Datenverarbeitungsressourcen des MiSeqDx-Geräts werden entweder für die Sequenzierung oder die Analyse verwendet.

Unter Verwendung von Local Run Manager wird ein Bestätigungsdialogfeld angezeigt, falls auf dem MiSeqDx ein neuer Sequenzierungslauf gestartet wird, bevor die Sekundäranalyse eines vorherigen Laufs abgeschlossen ist. Wenn Sie den Start des neuen Sequenzierungslaufs bestätigen, wird die Sekundäranalyse des vorherigen Laufs gestoppt, bis die Sequenzierung des neuen Laufs abgeschlossen ist.

Nach Abschluss der Sequenzierung des neuen Laufs beginnt die Sekundäranalyse des vorherigen Laufs automatisch wieder von vorne.

Erforderlicher Speicherplatz

Der integrierte Gerätecomputer besitzt eine Speicherkapazität von ca. 650 GB.

Bevor ein Lauf gestartet wird, überprüft die Software den verfügbaren Speicherplatz. Falls nicht genügend Speicherplatz für den Lauf vorhanden ist, wird eine Software-Eingabeaufforderung angezeigt. Die Meldung gibt an, wie viel Speicherplatz für den Lauf benötigt wird und wie viel Speicherplatz freigegeben werden muss, damit der Lauf fortgesetzt werden kann.

Falls Sie dazu aufgefordert werden, für mehr Speicherplatz zu sorgen, löschen Sie ältere Laufordner bzw. lagern Sie diese aus.

Richtlinien für Softwareeinschränkung

Die Windows-Richtlinien für Softwareeinschränkung (Software Restriction Policies, SRP) nutzen Regeln, um die Ausführung nur von bestimmter Software zuzulassen. Beim MiSeqDx basieren SRP-Regeln auf Zertifikaten, Dateinamen und -erweiterungen sowie Verzeichnissen.

Die SRP sind standardmäßig aktiviert, um zu verhindern, dass auf dem Steuerungscomputer unerwünschte Software ausgeführt wird. Nur der Benutzer „sbsadmin“ kann SRP deaktivieren.

Ein IT-Mitarbeiter oder ein Systemadministrator kann Regeln hinzufügen und entfernen, um die Sicherheitsstufe anzupassen. Wenn das System einer Domäne hinzugefügt wird, kann das lokale Gruppenrichtlinienobjekt (Group Policy Object, GPO) die Regeln automatisch ändern und die SRP deaktivieren.

Weitere Informationen zur Konfiguration von SRP finden Sie in [Illumina Instrument Control Computer Security and Networking](#) (Illumina-Gerätesteuerungscomputer – Sicherheit und Netzwerk).



VORSICHT

Das Deaktivieren der SRP verhindert den Schutz, den sie bieten. Das Ändern der Regeln überschreibt die Standardschutzvorkehrungen.

Virenschutzsoftware

Eine Virenschutzsoftware Ihrer Wahl wird dringend empfohlen, um den Gerätesteuerungscomputer vor Viren zu schützen. Windows-Softwareeinschränkungsrichtlinien (Software Restriction Policies, SRP) müssen bei der Installation von Virenschutzsoftware vorübergehend deaktiviert werden.

Weitere Informationen zur Konfiguration von Virenschutzsoftware und SRP finden Sie in [Illumina Instrument Control Computer Security and Networking](#) (Illumina-Gerätesteuerungscomputer – Sicherheit und Netzwerk).

Sequenzierungsmodus

Wenn Sie das Gerät starten, wird der Windows-Bildschirm **Choose an operating system** (Betriebssystem auswählen) angezeigt. Auf diesem Bildschirm können Sie den Sequenzierungsmodus des Betriebssystems auswählen, mit dem das Gerät gestartet werden soll: Forschungsmodus (RUO)

oder Diagnosemodus (Dx). Wenn Sie 10 Sekunden warten, wird automatisch der Standardmodus gewählt. Sie können den Standardmodus und den Timer für den Standard-Startmodus jederzeit ändern.

- Nachdem Sie einen Modus ausgewählt haben, müssen Sie das System neu starten, um den Modus zu wechseln. Siehe [Neustarten der Systemsoftware auf Seite 8](#).
- Wenn Sie zwischen dem RUO-Modus und dem Dx-Modus wechseln, werden Sie aufgefordert, eine Nachwaschung durchzuführen. Der Waschlaufstatus wird nicht zwischen Modi übertragen.

Zur Verwendung der Neustartfunktion ist der Zugriff als Windows-Administrator oder für einen Benutzer ohne Administratorrechte die Berechtigung zum Neustart im Forschungsmodus erforderlich.



VORSICHT

Das Zurücksetzen des Betriebssystems auf die Werkseinstellungen (RUO/Dx) sollte ausschließlich durch Servicetechniker von Illumina erfolgen. Mit dieser Option werden alle Informationen auf Laufwerk C dauerhaft gelöscht und das Betriebssystem wird im Auslieferungszustand wiederhergestellt. Wenn Sie diese Option wählen, muss ein Servicetechniker von Illumina das System wiederherstellen. Der Wiederherstellungsprozess kann nach dem Starten nicht abgebrochen werden. Aktivieren Sie diese Option nur auf Empfehlung des Kundenservice von Illumina.

So ändern Sie den Standard-Startmodus:

1. Wählen Sie **Change defaults or choose other options** (Standardeinstellungen ändern oder weitere Optionen wählen).
2. Wählen Sie im Bildschirm „Options“ (Optionen) die Option **Choose a default operating system** (Standardbetriebssystem wählen).
3. Wählen Sie den gewünschten Startmodus.
4. Wählen Sie den Pfeil „Back“ (Zurück), um zum Bildschirm **Options** (Optionen) zurückzukehren.

So ändern Sie den Timer für den Standard-Startmodus:

1. Wählen Sie **Change defaults or choose other options** (Standardeinstellungen ändern oder weitere Optionen wählen).
2. Wählen Sie auf den Bildschirm „Options“ (Optionen) die Option **Change the timer** (Timer ändern).
3. Wählen Sie auf den Bildschirm „Change the timer“ (Timer ändern) den gewünschten Timer.
4. Wählen Sie den Pfeil „Back“ (Zurück), um zum Bildschirm **Options** (Optionen) zurückzukehren.



WARNUNG

Wenn ein Benutzer unter Windows 10 das System neu startet, kann sich nur dieser Benutzer nach dem Hochfahren beim System anmelden.

Neustarten der Systemsoftware

Verwenden Sie den Befehl „Reboot“ (Neu starten), um die Systemsoftware neu zu starten. Es ist im Rahmen der regelmäßigen Wartung nicht erforderlich, die Software neu zu starten.

- Wählen Sie im Hauptmenü die Option **Reboot** (Neu starten).

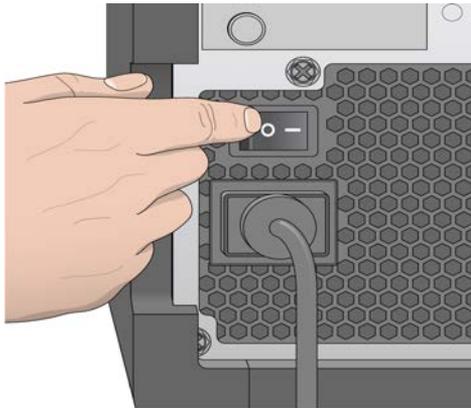
Erste Schritte

Starten des MiSeqDx

1. Stellen Sie den Netzkippschalter auf der Rückseite des Geräts in die Position „I“ (Ein).

HINWEIS Um eine optimale Leistung zu erzielen, lassen Sie das Gerät immer eingeschaltet. Wenn das Gerät jedoch ausgeschaltet werden muss, siehe [Ausschalten des Geräts auf Seite 36](#). Warten Sie *mindestens* 60 Sekunden, bevor Sie den Netzschalter wieder einschalten.

Abbildung 2 Position des Netzschalters



2. Warten Sie, bis das System geladen ist, wählen Sie dann das Betriebssystem und melden Sie sich an. Fragen Sie, falls erforderlich, den Administrator Ihres Unternehmens nach dem Benutzernamen und dem Kennwort.
Weitere Informationen zu den Optionen für das Betriebssystem und den Sequenzierungsmodus finden Sie unter [Sequenzierungsmodus auf Seite 6](#).
Wenn das Betriebssystem geladen ist, wird die MiSeq Operating Software (MOS) gestartet. Sie beginnt automatisch mit der Initialisierung des Systems. Wenn der RUO-Modus ausgewählt ist, wird MCS automatisch gestartet.
3. Wenn Sie Local Run Manager verwenden und die Benutzerverwaltung aktiviert ist, melden Sie sich mit Ihrem Local Run Manager-Benutzernamen und -Kennwort an und wählen Sie **Next** (Weiter).

Festlegen der Nachwaschungsoption

Nach jedem Lauf muss ein Gerätewaschlauf durchgeführt werden. Die Software verlangt die Durchführung eines Waschlaufs, bevor ein weiterer Lauf eingerichtet werden kann. Die Nachwaschungsoption legt die Art des standardmäßig durchzuführenden Waschlaufs fest. Eine Nachwaschung dauert etwa 30 Minuten. Ein Wartungswaschlauf dauert etwa 90 Minuten.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Wählen Sie die Registerkarte „Run Settings“ (Laufeinstellungen).
3. Wählen Sie **Post Run Wash** (Nachwaschung) bzw. **Maintenance Wash** (Wartungswaschlauf).

Festlegen der Option zum automatischen Start eines Laufs

Das MiSeqDx kann so konfiguriert werden, dass der Sequenzierungslauf nach einer erfolgreichen automatischen Prüfung automatisch gestartet wird. Zum Konfigurieren dieser Funktion werden Administratorrechte für Local Run Manager benötigt.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Wählen Sie die Registerkarte „Run Settings“ (Laufeinstellungen).
3. Aktivieren Sie das Kontrollkästchen **Start run after pre-run check. Do not prompt for confirmation.** (Lauf nach Selbsttest starten. Nicht zur Bestätigung auffordern.).
Wenn diese Option deaktiviert ist, müssen Sie den Lauf nach der Durchführung des Selbsttests manuell starten.

Aktivieren von Illumina Proactive Support

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Wählen Sie die Registerkarte „Proactive“.
3. Aktivieren Sie **Turn on Illumina Proactive Support (Illumina Proactive Support aktivieren)**, um den Überwachungsdienst Illumina Proactive zu aktivieren.

Nach Aktivierung dieser Einstellung werden Leistungsdaten des Geräts an Illumina gesendet. Diese Daten helfen Illumina bei der Ermittlung und Behebung von Fehlern, was die Durchführung proaktiver Wartungsarbeiten ermöglicht und die Geräteverfügbarkeit maximiert. Weitere Informationen zu den Vorteilen dieses Dienstes finden Sie im *technischen Hinweis zu Illumina Proactive (Dokument-Nr. 1000000052503)*.

Dieser Dienst:

- Sendet keine Sequenzierungsdaten.
- Erfordert, dass das Gerät mit einem Netzwerk mit Internetzugang verbunden ist.

- Ist standardmäßig deaktiviert. Aktivieren Sie die Option **Turn on Illumina Proactive Support** (Illumina Proactive Support aktivieren), wenn Sie diesen Service in Anspruch nehmen möchten.
4. Wählen Sie in der Dropdown-Liste die Hosting-Region für die Geräteverbindung aus.

Festlegen von E-Mail-Voreinstellungen

Das MiSeqDx-Gerät kann so konfiguriert werden, dass eine E-Mail-Benachrichtigung gesendet wird, wenn die RTA-Analyse abgeschlossen ist, wenn die Sekundäranalyse im Gerät abgeschlossen ist und wenn ein kritischer MiSeqDx-Softwarefehler auftritt. In der Regel wird dies während der Installation des MiSeqDx-Geräts konfiguriert. Zum Verwenden dieser Funktion werden Administratorrechte für Local Run Manager benötigt.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Wählen Sie die Registerkarte **Email Notifications** (E-Mail-Benachrichtigungen).
3. Geben Sie folgende Informationen ein:
 - **Local SMTP email server address** (Adresse des lokalen SMTP-E-Mail-Servers): Geben Sie über die Bildschirmtastatur die Adresse des lokalen SMTP-E-Mail-Servers ein. Fragen Sie bei Bedarf den Administrator Ihres Unternehmens nach dieser Information.
 - **Sender address** (E-Mail-Adresse des Absenders): Geben Sie über die Bildschirmtastatur die E-Mail-Adresse des Absenders ein. Sie können Ihre E-Mail-Adresse oder eine andere E-Mail-Adresse zum Senden von E-Mail-Benachrichtigungen angeben. Der Domänenname der E-Mail-Adresse des Absenders und der Adresse des E-Mail-Servers müssen identisch sein.
 - **Recipient addresses** (Empfängeradressen): Geben Sie über die Bildschirmtastatur die E-Mail-Adressen der Benachrichtigungsempfänger ein. Trennen Sie die einzelnen E-Mail-Adressen durch Kommas. Wählen Sie **Test**, um eine Test-E-Mail an die Benachrichtigungsempfänger zu senden.
 - **Notify via email when** (Per E-Mail benachrichtigen, wenn): Aktivieren Sie die Kontrollkästchen der Laufereignisse, für die eine Benachrichtigung gesendet werden soll.

Festlegen des Standardspeicherorts des Ausgabeordners

Der MiSeqDx-Ausgabeordner legt den Standardspeicherort für Analyseausgabedateien fest. Ordner können sich in einem lokalen Netzwerk oder auf dem Gerätecomputer befinden. Ändern Sie den Speicherort des Standardausgabeordners in einen Speicherort im Netzwerk, wenn Sie ihn freigeben oder langfristig speichern möchten.

Zum Konfigurieren dieser Funktion werden Administratorrechte für Local Run Manager benötigt.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Wählen Sie die Registerkarte „Run Settings“ (Laufeinstellungen).

3. Geben Sie im Feld „Output Folder“ (Ausgabeordner) den Pfad zum Speicherort ein. Stellen Sie sicher, dass Sie den vollständigen UNC-Pfad eingeben, z. B.

\\IhrServer\Pfad\Ausgabeordner.



WARNUNG

Wenn Sie ein zugeordnetes Laufwerk verwenden, z. B. Z:\Ausgabeordner, wird die Analyse des Sequenzierungslaufs nicht vollständig durchgeführt.

Erforderliche Verbrauchsmaterialien

Sequenzierungs-Verbrauchsmaterialien

Die Sequenzierungs-Verbrauchsmaterialien, die für den Betrieb des MiSeqDx erforderlich sind, werden separat als Teil eines *In-vitro*-Diagnose-Kits bereitgestellt.

Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien

Stellen Sie sicher, dass die folgenden vom Benutzer bereitzustellenden Verbrauchsmaterialien verfügbar sind, bevor Sie mit einem Lauf beginnen.

Verbrauchsmaterial	Zweck
Alkoholtupfer, 70 % Isopropyl oder Ethanol, 70 %	Reinigen des Fließzellenglases und des Fließzellentisches
Labortücher, fusselfrei	Reinigen des Fließzellentisches
Linsenpapier, 10,2 x 15,2 cm	Reinigen der Fließzelle
MiSeq-Röhrchen	Reinigen der Matrizenleitung (optional)
NaOCl, 5 %	Reinigen der Matrizenleitung (optional)
Tween 20	Gerätewaschlauf
Pinzette, viereckige Spitze, Kunststoff (optional)	Entfernen der Fließzelle aus dem Versandbehälter
Wasser, Laborqualität	Gerätewaschlauf

Richtlinien für Wasser in Laborqualität

Bei Geräteverfahren sollte immer deionisiertes Wasser bzw. Wasser in Laborqualität verwendet werden. Verwenden Sie niemals Leitungswasser.

Verwenden Sie nur die folgenden oder gleichwertige Wasserarten:

- Deionisiertes Wasser
- Illumina PW1
- 18-Megohm(M Ω)-Wasser
- Milli-Q-Wasser
- Super-Q-Wasser
- Wasser in Molekularbiologie-Qualität

Lagerung und Handhabung

Umgebungsfaktor	Spezifikation
Temperatur	Transport und Lagerung: -10 °C bis 40 °C Betriebsbedingungen: 19 °C bis 25 °C
Luftfeuchtigkeit	Transport und Lagerung: nicht kondensierende Feuchtigkeit Betriebsbedingungen: 30 bis 75 % relative Feuchtigkeit (nicht kondensierend)

Sequenzierung

Einleitung

Um einen Lauf auf dem MiSeqDx auszuführen, befolgen Sie die Schritte zum Einrichten in diesem Kapitel. Nach dem Beginn des Laufs sind keine weiteren Aktionen seitens des Benutzers erforderlich. Führen Sie nach Abschluss des Sequenzierungslaufs einen Gerätewaschlauf durch.

Dauer des Laufs

Die Dauer des Laufs basiert auf der Anzahl der durchgeführten Zyklen. Je nach Version der MiSeqDx-Reagenzien kann das MiSeqDx-Gerät einen Paired-End-Sequenzierungslauf von bis zu 2 x 301 Sequenzierungszyklen durchführen.

Anzahl der Zyklen in einem Read

Die Anzahl der in einem Read ausgeführten Zyklen ist um einen Zyklus höher als die Anzahl der analysierten Zyklen. Der zusätzliche Zyklus ist für Phasierungs- und Vorphasierungsberechnungen erforderlich.

Beispiel: Bei einem Paired-End-Lauf mit 150 Zyklen werden zwei Reads mit 151 Zyklen (2 x 151) ausgeführt, sodass sich eine Gesamtanzahl von 302 Zyklen, ggf. zuzüglich Zyklen für Index-Reads, ergibt. Am Ende des Laufs werden 2 x 150 Zyklen analysiert.

Clusterbildung

Während der Clusterbildung werden einzelne DNA-Moleküle an der Oberfläche der Fließzelle gebunden und dann amplifiziert, um Cluster zu bilden.

Sequenzierung

Im Anschluss an die Clusterbildung werden die Cluster mithilfe von LED und Filterkombinationen aufgenommen, die jedem der vier Fluoreszenz-Didesoxynukleotide entsprechen. Nachdem die Bildgebung einer Platte der Fließzelle abgeschlossen ist, wird die Fließzelle in die richtige Lage gebracht, um die nächste Platte aufzunehmen. Dieser Vorgang wird wiederholt, bis die Bildgebung für alle Platten beendet ist. Im Anschluss an die Bildanalyse führt die Software die Primäranalyse durch. Diese umfasst Base-Calling, Filtern und Qualitätsbewertung.

Analyse

Wenn der Lauf abgeschlossen ist, startet die Local Run Manager-Analysesoftware automatisch, um die Sekundäranalyse durchzuführen.

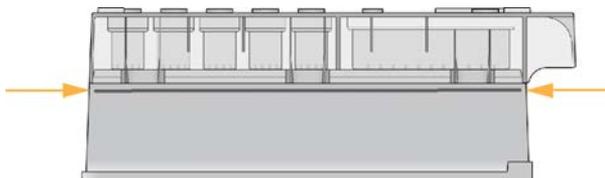
Die Sekundäranalyse kann über eine Internetverbindung von einem anderen Computer aus überwacht werden, sofern der Computer dieselbe Netzwerkverbindung nutzt wie das MiSeqDx. Siehe *Local Run Manager v3 Software Reference Guide for MiSeqDx (Dokument-Nr. 200003931) (Local Run Manager v3 Software-Referenzhandbuch für MiSeqDx)*.

Vorbereiten der Reagenzienkartusche

In den folgenden Anweisungen wird beschrieben, wie die Reagenzienkartusche in einem Wasserbad mit Raumtemperatur aufgetaut wird.

1. Tauen Sie die Reagenzienkartusche in einem Wasserbad auf, das ausreichend raumtemperiertes deionisiertes Wasser enthält, um die Basis der Reagenzienkartusche bis zur auf der Reagenzienkartusche aufgedruckten Wasserlinie einzutauchen. Das Wasser darf die maximale Wasserlinie nicht übersteigen.
2. Nehmen Sie die Reagenzienkartusche aus dem Lagerort mit einer Temperatur von -25 °C bis -15 °C heraus.
3. Legen Sie die Reagenzienkartusche in ein Wasserbad, das so viel raumtemperiertes deionisiertes Wasser enthält, dass es die Basis der Reagenzienkartusche bedeckt. Das Wasser darf nicht über die maximale Wasserlinie hinausreichen, die auf der Reagenzienkartusche aufgedruckt ist.

Abbildung 3 Maximale Wasserlinie



4. Lassen Sie die Reagenzienkartusche im raumtemperierten Wasserbad vollständig auftauen. Das Auftauen dauert je nach Art der Reagenzienkartusche etwa 60 bis 90 Minuten. Weitere Informationen finden Sie in der Packungsbeilage des Assays.
5. Nehmen Sie die Kartusche aus dem Wasserbad und klopfen Sie sie vorsichtig auf der Arbeitsfläche ab, um das Wasser von der Basis der Kartusche zu entfernen. Trocknen Sie die Basis der Kartusche ab. Stellen Sie sicher, dass kein Wasser auf die Oberseite der Reagenzienkartusche gespritzt ist.

Überprüfen der Reagenzienkartusche

1. Invertieren Sie die Reagenzienkartusche zehn Mal, um die aufgetauten Reagenzien zu mischen, und überprüfen Sie anschließend, ob alle Positionen aufgetaut sind.
2. Führen Sie eine Prüfung der Reagenzien an den Positionen 1, 2 und 4 durch, um sicherzugehen, dass sie vollständig vermischt und frei von Ausfällungen sind.

HINWEIS Es ist äußerst wichtig, dass die Reagenzien in der Kartusche vollständig aufgetaut und gemischt sind, damit eine ordnungsgemäße Sequenzierung sichergestellt werden kann.

3. Klopfen Sie mit der Kartusche vorsichtig auf die Arbeitsfläche, um Luftblasen in den Reagenzien zu entfernen.

HINWEIS Die MiSeqDx-Sipper-Röhrchen reichen bis zum Boden der einzelnen Behälter, um die Reagenzien zu aspirieren. Deshalb ist es wichtig, dass sich keine Luftblasen in den Behältern befinden.

4. Lagern Sie die Reagenzienkartusche auf Eis bzw. lagern Sie sie bei 2 °C bis 8 °C (bis zu 6 Stunden), bis Sie den Lauf konfigurieren können. Die besten Ergebnisse erzielen Sie, wenn Sie direkt mit dem Laden der Probe und dem Konfigurieren des Laufs fortfahren.

Laden der Probenbibliotheken in eine Kartusche

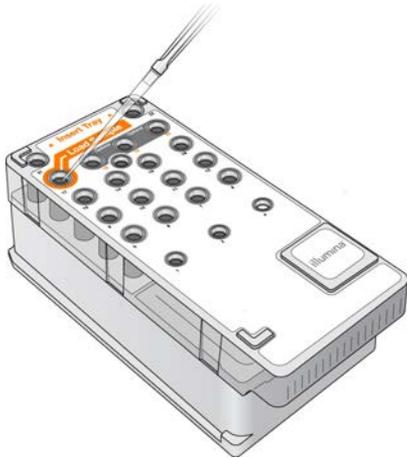
Wenn die Reagenzienkartusche vollständig aufgetaut und gebrauchsfertig ist, können Sie die Proben in die Kartusche laden.

1. Verwenden Sie eine separate, saubere und leere 1-ml-Pipettenspitze, um die Verschlussfolie über dem mit **Load Samples** (Proben laden) bezeichneten Behälter auf der Reagenzienkartusche zu durchstechen.

HINWEIS Durchstechen Sie keine anderen Reagenzienpositionen. Die anderen Reagenzienpositionen werden automatisch während des Laufs durchstochen.

2. Geben Sie mit der Pipette 600 µl der vorbereiteten verdünnten DAL-Probenbibliotheken (Diluted Amplicon Library, verdünnte Amplikon-Bibliothek) in den Behälter **Load Samples** (Proben laden). Achten Sie darauf, die Verschlussfolie nicht zu berühren.
3. Überprüfen Sie nach dem Laden der Probe, ob sich Luftblasen im Behälter befinden. Falls Luftblasen vorhanden sind, klopfen Sie mit der Kartusche vorsichtig auf die Arbeitsfläche, damit die Blasen entweichen.

Abbildung 4 Laden der Bibliotheken



4. Fahren Sie mit den Schritten zum Konfigurieren des Laufs über die Benutzeroberfläche der MiSeq Operating Software (MOS) fort.

Anmelden und Befolgen der Eingabeaufforderungen für die Sequenzierung

1. Wählen Sie im Startbildschirm die Option **Sequence** (Sequenzieren).
2. Wenn der Anmeldebildschirm geöffnet wird, geben Sie die entsprechenden Benutzeranmeldedaten ein und wählen Sie anschließend **Next** (Weiter). Wählen Sie nach der Anmeldung erneut **Sequence** (Sequenzieren).
3. Wählen Sie einen Lauf aus der Liste.
4. [Optional] Wählen Sie **Preview Samples** (Probenvorschau), um eine Liste der Proben im Lauf anzuzeigen.
5. Wählen Sie **Next** (Weiter).
6. Folgen Sie den Aufforderungen zum Laden der Fließzelle und Reagenzien und richten Sie den Lauf ein (in den folgenden Abschnitten beschrieben).

Reinigen der Fließzelle

Die Fließzelle befindet sich in einem Fließzellenbehälter und ist in Lagerungspuffer eingetaucht.

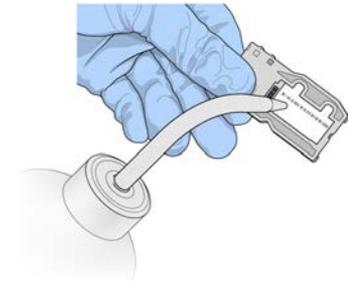
1. Ziehen Sie ein neues Paar ungepuderter Handschuhe an.
2. Greifen Sie die Fließzelle mit einer Kunststoffpinzette an der Basis der Kunststoffkartusche und nehmen Sie sie aus dem Fließzellenbehälter.

Abbildung 5 Entnehmen der Fließzelle



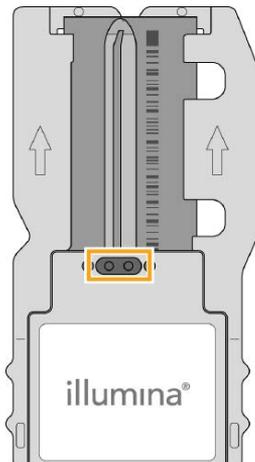
3. Spülen Sie die Fließzelle leicht mit Wasser in Laborqualität und stellen Sie sicher, dass sowohl das Glas als auch die Kunststoffkartusche gründlich von Salzablagerungen befreit werden. Salzablagerungen beeinträchtigen den Sitz der Fließzelle im Gerät. Wenn Salzablagerungen im Bildgebungsbereich antrocknen, kann die Bildgebung ebenfalls beeinträchtigt werden.

Abbildung 6 Spülen der Fließzelle



4. Trocknen Sie die Fließzelle und die Kartusche mit einem fusselfreien Reinigungstuch für Objektive sorgfältig ab. Gehen Sie dabei behutsam mit der schwarzen Fließzellenanschlussdichtung (in folgender Abbildung umrandet) um. Tupfen Sie den Bereich der Dichtung und des angrenzenden Glases vorsichtig trocken.

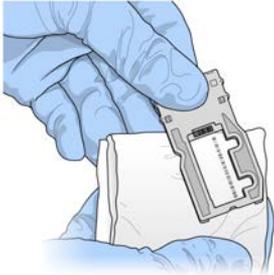
Abbildung 7 Fließzellenanschlüsse und Dichtung



5. Reinigen Sie das Fließzellenglas mit einem Alkoholtupfer. Stellen Sie sicher, dass das Glas keine Streifen, Fingerabdrücke und Fusseln oder Gewebefasern aufweist.

HINWEIS Achten Sie darauf, dass der Alkoholtupfer nicht mit der Fließzellenanschlussdichtung in Kontakt kommt.

Abbildung 8 Trocknen der Fließzelle



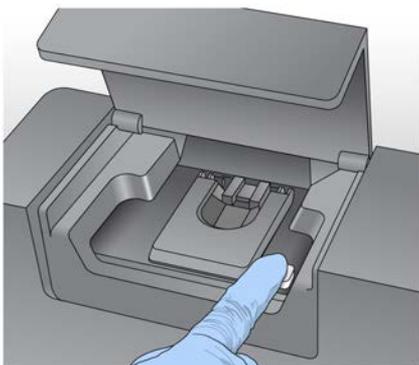
6. Trocknen Sie überschüssigen Alkohol mit einem fusselfreien Reinigungstuch für Objektive ab.
7. Stellen Sie sicher, dass die Fließzellenanschlüsse nicht verstopft sind und dass die Dichtung rund um die Fließzellenanschlüsse gut sitzt.

Wenn die Dichtung verschoben zu sein scheint, drücken Sie sie vorsichtig zurück an ihren Platz, bis sie die Fließzellenanschlüsse sicher umschließt.

Laden der Fließzelle

1. Heben Sie die Klappe der Fließzellenkammer an und drücken Sie anschließend den Freigabeknopf rechts neben dem Fließzellenriegel. Der Fließzellenriegel öffnet sich.

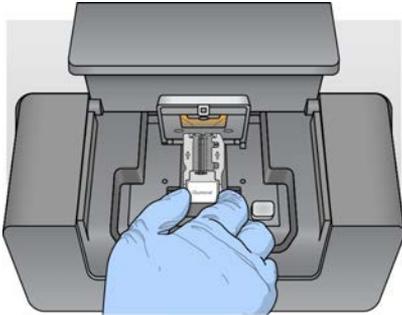
Abbildung 9 Öffnen des Fließzellenriegels



2. Stellen Sie sicher, dass sich keine Fusseln auf dem Fließzellentisch befinden. Wenn Fusseln oder andere Partikel vorhanden sind, reinigen Sie den Fließzellentisch mit einem Alkoholtupfer oder einem fusselfreien, mit Ethanol oder Isopropanol befeuchteten Tuch. Wischen Sie die Oberfläche des Fließzellentischs vorsichtig ab, bis sie sauber und trocken ist.

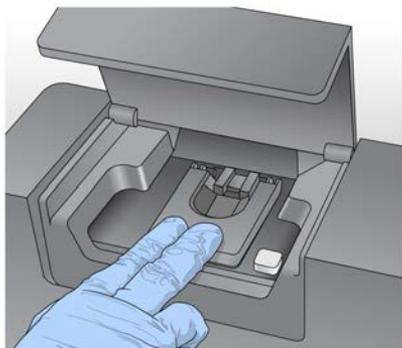
3. Halten Sie die Fließzelle an den Kanten der Fließzellenkartusche fest und platzieren Sie sie auf dem Fließzellentisch.

Abbildung 10 Platzieren der Fließzelle auf dem Tisch



4. Drücken Sie den Fließzellenriegel sanft nach unten, um ihn über der Fließzelle zu schließen. Wenn sich der Fließzellenriegel schließt, wird die Fließzelle durch die Ausrichtungsstifte positioniert. Ein hörbares Klicken gibt an, dass der Fließzellenriegel sicher eingerastet ist.

Abbildung 11 Schließen des Fließzellenriegels



5. Falls die Software die RFID der Fließzelle nicht identifiziert, siehe [Beheben von RFID-Lese Fehlern auf Seite 41](#).

HINWEIS Wenn die RFID nicht gelesen werden kann, können Sie manuell Informationen zur Identifikation eingeben. Die Software erlaubt jedoch bei einem In-vitro-Diagnoselauf das Fehlschlagen des Lesevorgangs nur bei einer der drei mit einer RFID gekennzeichneten Komponenten (Fließzelle, Reagenzienkartusche, MiSeqDx SBS Solution (PR2)). Weitere Informationen hierzu finden Sie unter [Beheben von RFID-Lese Fehlern auf Seite 41](#).

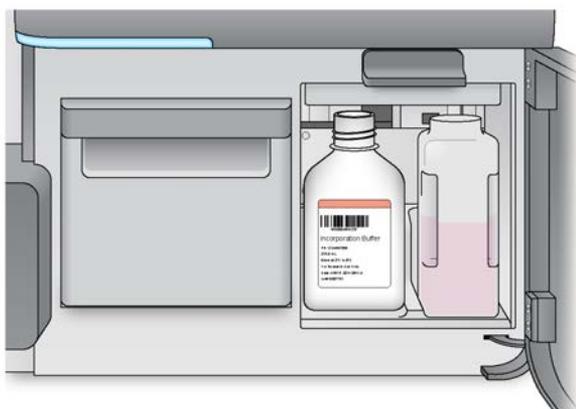
6. Schließen Sie die Klappe der Fließzellenkammer.
7. Wählen Sie **Next** (Weiter).

Laden von Reagenzien

Laden der MiSeqDx SBS Solution (PR2) und Überprüfen der Abfallflasche

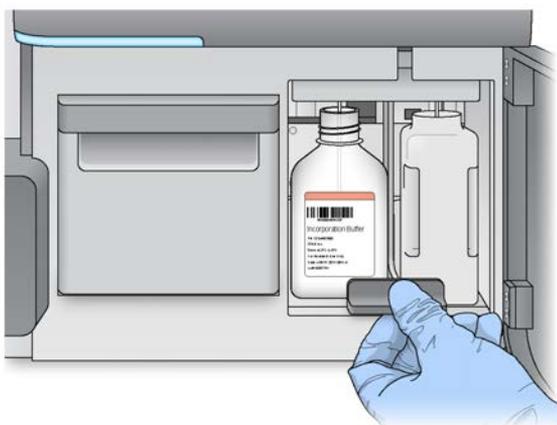
1. Nehmen Sie die Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) aus dem Lagerort mit einer Temperatur von 2 °C bis 8 °C heraus. Invertieren Sie sie zum Mischen und entfernen Sie anschließend den Deckel.
2. Öffnen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
3. Heben Sie den Sipper-Griff an, bis er einrastet.
4. Entfernen Sie die Waschflasche und laden Sie die Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2).

Abbildung 12 Laden der Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2)



5. Leeren Sie den Inhalt der Abfallflasche in den entsprechenden Abfallbehälter aus.
6. Senken Sie langsam den Sipper-Griff. Stellen Sie sicher, dass die Sipper in die Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) und in die Abfallflasche eintauchen.

Abbildung 13 Absenken des Sipper-Griffs



7. Falls die Software die RFID der Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) nicht erkennt, finden Sie weitere Informationen unter [Beheben von RFID-Lese Fehlern auf Seite 41](#).

HINWEIS Wenn die RFID nicht gelesen werden kann, können Sie manuell Informationen zur Identifikation eingeben. Die Software erlaubt jedoch bei einem In-vitro-Diagnoselauf das Fehlschlagen des Lesevorgangs nur bei einer der drei mit einer RFID gekennzeichneten Komponenten (Fließzelle, Reagenzienkartusche, MiSeqDx SBS Solution (PR2)). Weitere Informationen hierzu finden Sie unter [Beheben von RFID-Lese Fehlern auf Seite 41](#).

8. Wählen Sie **Next** (Weiter).

Laden der Reagenzienkartusche

1. Öffnen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.

HINWEIS Lassen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers nicht für längere Zeit geöffnet.

2. Halten Sie die Reagenzienkartusche an dem Ende mit dem Illumina-Etikett und schieben Sie sie bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler.

Abbildung 14 Laden der Reagenzienkartusche



3. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.
4. Falls die Software die RFID der Reagenzienkartusche nicht identifiziert, siehe [Beheben von RFID-Lese Fehlern auf Seite 41](#).

HINWEIS Wenn die RFID nicht gelesen werden kann, können Sie manuell Informationen zur Identifikation eingeben. Die Software erlaubt jedoch bei einem In-vitro-Diagnoselauf das Fehlschlagen des Lesevorgangs nur bei einer der drei mit einer RFID gekennzeichneten Komponenten (Fließzelle, Reagenzienkartusche, MiSeqDx SBS Solution (PR2)). Weitere Informationen hierzu finden Sie unter [Beheben von RFID-Lese Fehlern auf Seite 41](#).

5. Um den Lauf zu starten, wählen Sie eine der folgenden Optionen.
 - Wenn das System nicht für einen automatischen Start des Laufs nach erfolgreicher Durchführung des Selbsttests konfiguriert ist, wählen Sie **Start Run** (Lauf starten).
 - Ist das System für den automatischen Start konfiguriert, wird der Sequenzierungslauf automatisch gestartet. Sie müssen nicht anwesend sein. Falls jedoch beim Selbsttest Fehler auftreten, wird der Lauf nicht automatisch gestartet.

HINWEIS Wenn die Temperatur des Reagenzienkühlers außerhalb des zulässigen Bereichs liegt, kann dies den Start des Sequenzierungslaufs verhindern. Weitere Informationen hierzu finden Sie unter [Beheben von Temperaturfehlern des Reagenzienkühlers auf Seite 44](#).

Wichtiger Hinweis vor dem Starten des Laufs



WARNUNG

Das MiSeqDx ist empfindlich gegenüber Erschütterungen. Eine Berührung des Geräts nach dem Start eines Laufs könnte sich nachteilig auf die Sequenzierungsergebnisse auswirken.

Nachdem Sie die Reagenzienkartusche geladen und die Klappe der Reagenzienkammer geschlossen haben, dürfen Sie weder die Fließzellenkammer noch die Klappe der Reagenzienkammer öffnen. Berühren Sie den Gerätebildschirm nicht, es sei denn, Sie müssen den Lauf anhalten. Weitere Informationen finden Sie unter [Unterbrechen eines Laufs auf Seite 39](#).



WARNUNG

Schließen Sie alle Dateien auf dem MiSeqDx, bevor Sie einen Lauf starten, und öffnen Sie keine Dateien während des Laufs.

Überwachen des Laufs

Überwachen Sie während eines Laufs die Laufdetails mithilfe des Sequenzierungsbildschirms am Gerät. Im Sequenzierungsbildschirm können keine Eingaben vorgenommen werden.

Sie können auch Local Run Manager zur Fernüberwachung des Laufs verwenden, wenn das Gerät mit demselben Netzwerk verbunden ist.

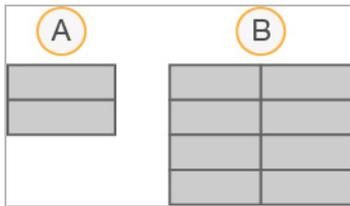
Local Run Manager zeigt den Lauffortschritt und Sequenzierungsinformationen an („Total Clusters“ (Gesamtzahl der Cluster), „% Clusters PF“ (Prozentsatz der Cluster nach Filterung), prozentualer Anteil von Read 1 und Read 2 >= Q30 und „Last Scored Cycle“ (Letzter Zyklus mit Score)). Weitere Informationen finden Sie unter [Local Run Manager-Software auf Seite 5](#).

1. Auf dem Sequenzierungsbildschirm des Geräts können Sie den Lauffortschritt, Intensitäten und Qualitäts-Scores überwachen.

- **Run Progress** (Lauffortschritt): Zeigt den Lauffortschritt in einer Statusleiste an und listet die Anzahl der abgeschlossenen Zyklen auf.
- **Intensity** (Intensität): Zeigt den Wert der Clusterintensitäten auf der 90. Perzentile für jede Platte an.

Die Grafik im Bereich „Intensity“ (Intensität) stellt die Anzahl der aufgenommenen Platten dar.

- Wenn nur die obere Oberfläche der Fließzelle aufgenommen wird, wird eine Grafik mit einer Spalte angezeigt.
- Wenn die obere und die untere Oberfläche der Fließzelle aufgenommen werden, wird eine Grafik mit zwei Spalten angezeigt.



- A. Zeigt zwei Platten an, nur obere Oberfläche
- B. Zeigt vier Platten an, obere und untere Oberfläche

- **Q-Score All Cycles** (Q-Score aller Zyklen): Zeigt den durchschnittlichen Prozentsatz der Basen an, deren Qualitäts-Score größer als Q30 ist. Ein Qualitäts-Score (Q-Score) ist eine Prognose der Wahrscheinlichkeit eines falschen Base-Calls. Q-Scores werden nach Zyklus 25 berechnet.

Q-Score	Wahrscheinlichkeit eines falschen Base-Calls
Q40	1 von 10.000
Q30	1 von 1.000
Q20	1 von 100
Q10	1 von 10

- **Cluster Density (K/mm²)** (Clusterdichte (K/mm²)): Zeigt die Anzahl an Clustern pro Quadratmillimeter für den Lauf an. Die optimale Clusterdichte beträgt 800 K/mm².

HINWEIS Die Reinheit eines Base-Calls ist das Verhältnis der Intensität des größten Signals dividiert durch die Summe der zwei größten Signale. Reads passieren den Qualitätsfilter nicht, wenn es mehr als einen Base-Call mit einem Reinheitswert von weniger als 0,6 in den ersten 25 Zyklen gibt.

- **Estimated Yield (Mb)** (Geschätzte Menge (Mb)): Zeigt die beabsichtigte Anzahl der Base-Calls für den Lauf an, gemessen in Megabasen. Diese Daten werden erst nach Zyklus 25 angezeigt.

2. Wenn der Lauf abgeschlossen ist, wird die Schaltfläche „Next“ (Weiter) angezeigt. Überprüfen Sie die Ergebnisse im Sequenzierungsbildschirm, bevor Sie fortfahren.

HINWEIS Der Sequenzierungsbildschirm bleibt sichtbar, bis „Next“ (Weiter) ausgewählt wird. Nachdem Sie „Next“ (Weiter) ausgewählt haben, können Sie nicht mehr zum Sequenzierungsbildschirm zurückkehren.

3. Wählen Sie **Next** (Weiter), um den Sequenzierungsbildschirm zu schließen und mit einer Nachwaschung fortzufahren.

Matrizenbildung

Real-Time Analysis (RTA) verwendet die ersten vier Zyklen des Sequenzierungslaufs zur Matrizenbildung. Bei der Matrizenbildung werden Clusterpositionen über die gesamte Fließzellenoberfläche anhand von X- und Y-Koordinaten definiert.

Nachdem die Matrize mit Clusterpositionen erstellt wurde, werden die bei jedem nachfolgenden Zyklus der Bildgebung produzierten Bilder auf Basis der Matrize ausgerichtet. Einzelne Clusterintensitäten in allen vier Nukleotid-Farbkanälen werden extrahiert und Base-Calls werden auf der Grundlage der normalisierten Clusterintensitäten produziert.

Laufkennzahlen

Laufkennzahlen werden an verschiedenen Punkten eines Laufs auf dem Sequenzierungsbildschirm angezeigt. Während der Schritte für die Clusterbildung werden keine Kennzahlen angezeigt.

Nach Beginn der Sequenzierung werden die folgenden Kennzahlen bei den angegebenen Zyklen angezeigt:

Zyklus	Kennzahl
Zyklus 1–4	Intensität
Zyklus 4–25	Intensität und Clusterdichte
Zyklus 25 bis Abschluss des Laufs	Intensität, Clusterdichte, % PF, Menge und Qualitäts-Scores

Durchführen einer Nachwaschung

Die Nachwaschung ist ein Standardgerätewaschlauf, der zwischen Sequenzierungsläufen durchgeführt wird. Führen Sie nach jedem Sequenzierungslauf einen Gerätewaschlauf durch. Befolgen Sie die Anweisungen der Software zum Laden der Waschlaufkomponenten und Durchführen des Waschlaufs. Die Nachwaschung dauert etwa 20 Minuten.

Starten Sie den Waschlauf direkt nach dem Lauf. Um einen weiteren Lauf konfigurieren zu können, muss zunächst ein Gerätewaschlauf durchgeführt werden. Wenn Sie eine Nachwaschung zu einem anderen Zeitpunkt als direkt nach einem Lauf durchführen müssen, verwenden Sie den Befehl im Bildschirm „Perform Wash“ (Waschlauf durchführen), um den Waschlauf zu initiieren.

Durch regelmäßige Gerätewaschläufe wird die kontinuierliche Leistungsfähigkeit des Geräts wie folgt sichergestellt:

- Gegebenenfalls vorhandene Reagenzienreste werden aus den Fluidikleitungen und Sippeln gespült.
- Eine Ansammlung von Salz und Kristallisation in den Fluidikleitungen und Sippeln wird verhindert.
- Eine Kreuzkontaminierung aus dem vorherigen Lauf wird verhindert.

Sie haben die Option, eine Nachwaschung einschließlich eines Matrizenleitungswaschlaufs mit einer Natriumhypochloritlösung (NaOCl) durchzuführen. Der Waschlauf dauert etwa 30 Minuten. Weitere Informationen hierzu finden Sie unter [Verfahren mit Matrizenleitungswaschlauf auf Seite 28](#).

HINWEIS Lassen Sie die gebrauchte Fließzelle im Gerät. Für einen Gerätewaschlauf muss sich eine Fließzelle im Gerät befinden.

Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, Katalog-Nr. P7949)
- Wasser in Laborqualität
- NaOCl (für Nachwaschungen mit Matrizenleitungswaschlauf)
- MiSeq-Röhrchen (Artikelnr. MS-102-9999) (für Nachwaschungen, die einen Matrizenleitungswaschlauf beinhalten)

Verfahren

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor:
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.
 - b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie mehrmals den Behälter zum Mischen.
2. Bereiten Sie die Waschlaufkomponenten mit einer frischen Waschlösung mit 0,5 % Tween 20 wie folgt vor:
 - a. Füllen Sie in jeden Behälter der Waschablage 6 ml Waschlösung.
 - b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.
3. Wählen Sie im Nachwaschungsbildschirm **Start Wash** (Waschlauf starten). Die Software hebt automatisch die Sipper im Reagenzienkühler an. Warten Sie mehrere Sekunden, um sicherzustellen, dass die Sipper vollständig angehoben sind, bevor Sie fortfahren.

Wählen Sie **nicht Perform optional template line wash** (Optionalen Matrizenleitungswaschlauf durchführen) im Nachwaschungsbildschirm. Zum Durchführen eines Matrizenleitungswaschlaufs sind andere Schritte erforderlich. Weitere Informationen hierzu finden Sie unter [Verfahren mit Matrizenleitungswaschlauf auf Seite 28](#).

4. Öffnen Sie die Klappe der Reagenzienkammer und des Reagenzienkühlers und schieben Sie die gebrauchte Reagenzienkartusche aus dem Reagenzienkühler.
5. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler und schließen Sie dann die Klappe des Reagenzienkühlers.
6. Heben Sie den Sipper-Griff vor der Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) und der Abfallflasche an, bis er einrastet.
7. Entfernen Sie die Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) und setzen Sie die Waschflasche ein.

HINWEIS Entsorgen Sie die Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) nach jedem Lauf.
Verwenden Sie überschüssige MiSeqDx SBS Solution (PR2) nicht noch einmal.

8. Entfernen Sie die Abfallflasche und entsorgen Sie den Inhalt ordnungsgemäß. Setzen Sie die Abfallflasche wieder in die Reagenzienkammer ein.



WARNUNG

Diese Reagenzien enthalten potenziell gefährliche Chemikalien. Es kann daher durch Inhalation oder orale Aufnahme, Kontakt mit der Haut oder den Augen zu einer Verletzung von Personen kommen. Tragen Sie eine entsprechende für das Expositionsrisiko geeignete Schutzausrüstung, einschließlich Schutzbrille, Handschuhen und Laborkittel. Verbrauchte Reagenzien sind als chemische Abfälle zu behandeln. Entsorgen Sie sie daher gemäß den geltenden regionalen, nationalen und lokalen Gesetzen und Vorschriften. Weitere umwelt-, gesundheits- und sicherheitsbezogene Informationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt (SDS, Safety Data Sheet) unter support.illumina.com/sds.html.

9. Drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten und stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
10. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
11. Wählen Sie **Next** (Weiter). Die Nachwaschung beginnt.

Wenn der Waschlauf abgeschlossen ist, lassen Sie die gebrauchte Fließzelle, die Waschablage und die Waschflasche mit der übrigen Waschlösung im Gerät.

HINWEIS Die Sipper bleiben in der unteren Position, was normal ist. Lassen Sie die nicht verwendete Waschlösung in der Waschablage und der Waschflasche, um das Austrocknen der Sipper und das Eindringen von Luft in das System zu verhindern.

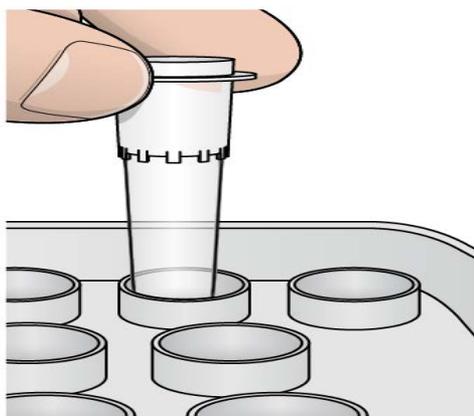
Verfahren mit Matrizenleitungswaschlauf

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor.
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.
 - b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie fünf Mal, um die Lösung zu mischen.
2. Bereiten Sie eine frische NaOCl-Waschlösung mit Wasser in Laborqualität wie folgt vor:
 - a. Geben Sie 36 µl 5%iges NaOCl zu 864 µl Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine im Verhältnis 1:25 verdünnte NaOCl-Lösung.
 - b. Geben Sie in einem MiSeq-Röhrchen (Artikelnr. MS-102-9999) 50 µl 1:25-NaOCl-Lösung zu 950 µl Wasser in Laborqualität.

HINWEIS Die Verwendung der korrekten Konzentration von NaOCl ist sehr wichtig. Prüfen Sie den Prozentwert für NaOCl auf dem Produktetikett. Wenn die Konzentration zu hoch ist, schlägt die Clusterbildung in den nachfolgenden Läufen ggf. fehl. Falls kein 5%iges NaOCl zur Verfügung steht, bereiten Sie 1 ml Lösung aus 0,01%igem NaOCl in Wasser in Laborqualität vor. Verwenden Sie NaOCl *nicht* für Wartungs- oder Standbywaschläufe.

3. Bereiten Sie die Waschlaufkomponenten mit einer frischen Waschlösung wie folgt vor.
 - a. Füllen Sie in jeden Behälter der Waschablage 6 ml Waschlösung.
 - b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.
4. Stellen Sie das MiSeq-Röhrchen mit 0,01%iger NaOCl-Waschlösung in Position 17 der Waschablage, bis der Hals des Röhrchens bündig mit der Ablage abschließt. Das Röhrchen ersetzt die ursprüngliche Waschlösung aus Tween 20 und Wasser in Laborqualität in Position 17.

Abbildung 15 MiSeq-Röhrchen in Position 17 der Waschablage



HINWEIS Stellen Sie sicher, dass Sie das MiSeq-Röhrchen mit NaOCl nur in Position 17 platzieren. Wenn Sie das Röhrchen an einer anderen Position einsetzen, schlägt die Clusterbildung in den nachfolgenden Läufen ggf. fehl und das Fluidsystem des MiSeqDx-Geräts wird beschädigt.

5. Wenn der Lauf beendet ist, wählen Sie **Start Wash** (Waschlauf starten). Die Software hebt automatisch die Sipper im Reagenzienkühler an.
6. Wählen Sie im Nachwaschungsbildschirm die Option **Perform optional template line wash** (Optionalen Matrizenleitungswaschlauf durchführen).
7. Öffnen Sie die Klappe der Reagenzienkammer und des Reagenzienkühlers und schieben Sie die gebrauchte Reagenzienkartusche aus dem Reagenzienkühler.
8. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler und schließen Sie dann die Klappe des Reagenzienkühlers.
9. Heben Sie den Sipper-Griff vor der PR2-Flasche und der Abfallflasche an, bis er einrastet.
10. Entfernen Sie die PR2-Flasche und setzen Sie die Waschflasche ein.
11. Entfernen Sie die Abfallflasche und entsorgen Sie den Inhalt ordnungsgemäß. Setzen Sie die Abfallflasche wieder in die Reagenzienkammer ein.



WARNUNG

Diese Reagenzien enthalten potenziell gefährliche Chemikalien. Es kann daher durch Inhalation oder orale Aufnahme, Kontakt mit der Haut oder den Augen zu einer Verletzung von Personen kommen. Tragen Sie eine entsprechende für das Expositionsrisiko geeignete Schutzausrüstung, einschließlich Schutzbrille, Handschuhen und Laborkittel. Verbrauchte Reagenzien sind als chemische Abfälle zu behandeln. Entsorgen Sie sie daher gemäß den geltenden regionalen, nationalen und lokalen Gesetzen und Vorschriften. Weitere umwelt-, gesundheits- und sicherheitsbezogene Informationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt (SDS, Safety Data Sheet) unter support.illumina.com/sds.html.

12. Drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten und stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
13. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
14. Wählen Sie **Next** (Weiter). Die Nachwaschung beginnt.

Wenn der Waschlauf abgeschlossen ist, lassen Sie die gebrauchte Fließzelle, die Waschablage und die Waschflasche mit der übrigen Waschlösung im Gerät.

HINWEIS Die Sipper bleiben in der unteren Position, was normal ist. Lassen Sie die nicht verwendete Waschlösung in der Waschablage und der Waschflasche, um das Austrocknen der Sipper und das Eindringen von Luft in das System zu verhindern.

Wartung

Wartungshäufigkeit

Führen Sie die in diesem Kapitel beschriebenen Wartungsaktivitäten zu den Intervallen durch, die in den folgenden Tabellen aufgeführt sind.

Tabelle 1 Wartung während des normalen Betriebs

Aktivität	Monatlich	Nach Bedarf
Wartungswaschlauf	X	
Standbywaschlauf		Zur Vorbereitung für den Leerlauf (mindestens sieben Tage nicht verwendet)
Ausschalten des Geräts		X

Tabelle 2 Wartung während des Leerlaufs (mindestens sieben Tage nicht verwendet)

Aktivität	Monatlich	Nach Bedarf
Standbywaschlauf	X	
Ausschalten des Geräts		X

Präventive Wartung

Illumina empfiehlt eine präventive Wartung pro Kalenderjahr. Wenn Sie keinen Servicevertrag abgeschlossen haben, wenden Sie sich an den für Ihre Region zuständigen Kundenbetreuer oder an den technischen Support von Illumina, um einen Termin für eine kostenpflichtige präventive Wartung zu vereinbaren.

Durchführen eines Wartungswaschlaufs

Führen Sie alle 30 Tage einen Wartungswaschlauf durch, um eine optimale Leistung sicherzustellen. Der Wartungswaschlauf dauert ca. 90 Minuten. Für den Waschlauf sind drei Waschschriffe erforderlich, bei denen das System mithilfe einer Waschlösung aus Tween 20 und Wasser in Laborqualität gründlich gespült wird.

Sie können Ihr Gerät so konfigurieren, dass statt einer Nachwaschung ein Wartungswaschlauf zwischen zwei Läufen durchgeführt wird. Weitere Informationen hierzu finden Sie unter [Festlegen der Nachwaschungsoption auf Seite 10](#).

Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, Katalog-Nr. P7949)

- Wasser in Laborqualität



VORSICHT

Schließen Sie nach dem Befüllen der Waschablage und vor dem Starten eines Waschlaufs stets die Klappe des Reagenzienkühlers. Dieser Schritt verhindert, dass Ihre Hände durch die sich herabsenkenden Sipper verletzt werden.

Verfahren

1. Stellen Sie sicher, dass sich eine gebrauchte Fließzelle im Gerät befindet.
2. Wählen Sie im Startbildschirm **Perform Wash** (Waschlauf durchführen).
3. Wählen Sie im Bildschirm „Perform Wash“ (Waschlauf durchführen) die Option **Maintenance Wash** (Wartungswaschlauf). Die Software hebt automatisch die Sipper im Reagenzienkühler an.

HINWEIS Verwenden Sie stets für jeden der Waschschriffe eine frische Waschlösung. Wenn Waschlösung aus dem vorausgegangenen Waschlauf wiederverwendet wird, kann Abfall erneut in die Fluidikleitungen gelangen.

Durchführen des ersten Waschlaufs

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor:
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.
 - b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie mehrmals den Behälter zum Mischen.
2. Bereiten Sie die Waschlaufkomponenten mit einer frischen Waschlösung mit 0,5 % Tween 20 wie folgt vor:
 - a. Füllen Sie in jeden Behälter der Waschablage 6 ml Waschlösung.
 - b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.
3. Laden Sie die Waschablage und die Waschflasche in das Gerät:
 - a. Öffnen Sie die Klappe der Reagenzienkammer und des Reagenzienkühlers und schieben Sie die gebrauchte Reagenzienkartusche oder Waschablage aus dem Reagenzienkühler.
 - b. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.
 - c. Heben Sie den Sipper-Griff vor der Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) und der Abfallflasche an, bis er einrastet, und tauschen Sie die Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) gegen die Waschflasche aus.

HINWEIS Entsorgen Sie die Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) nach jedem Lauf.
Verwenden Sie überschüssige MiSeqDx SBS Solution (PR2) nicht noch einmal.

- d. Entfernen Sie die Abfallflasche und entsorgen Sie den Inhalt ordnungsgemäß. Setzen Sie die Abfallflasche wieder in die Reagenzienkammer ein.
 - e. Drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten und stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
 - f. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
4. Wählen Sie **Next** (Weiter). Der erste Waschlauf beginnt.

Durchführen des zweiten Waschlaufs

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor:
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.
 - b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie mehrmals den Behälter zum Mischen.
2. Wenn der erste Waschlauf abgeschlossen ist, entfernen Sie die Waschablage und die Waschflasche und entsorgen Sie die verbleibende Waschlösung.
3. Füllen Sie die Waschlaufkomponenten wie folgt erneut mit einer frischen Waschlösung mit 0,5 % Tween 20:
 - a. Füllen Sie in jeden Behälter der Waschablage 6 ml Waschlösung.
 - b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.
4. Laden Sie die Waschablage und Waschflasche wie folgt:
 - a. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.
 - b. Laden Sie die Waschflasche und drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten. Stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
 - c. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
5. Wählen Sie **Next** (Weiter). Der zweite Waschlauf beginnt.

Durchführen des letzten Waschlaufs

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor:
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.

- b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie mehrmals den Behälter zum Mischen.
2. Wenn der zweite Waschlauf abgeschlossen ist, entfernen Sie die Waschablage und die Waschflasche und entsorgen Sie die verbleibende Waschlösung.
3. Füllen Sie die Waschlaufkomponenten wie folgt erneut mit einer frischen Waschlösung mit 0,5 % Tween 20:
 - a. Füllen Sie in jeden Behälter der Waschablage 6 ml Waschlösung.
 - b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.
4. Laden Sie die Waschablage und Waschflasche wie folgt:
 - a. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.
 - b. Laden Sie die Waschflasche und drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten. Stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
 - c. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
5. Wählen Sie **Next** (Weiter). Der letzte Waschlauf beginnt.

Nach dem Waschlauf

Wenn der Waschlauf abgeschlossen ist, lassen Sie die gebrauchte Fließzelle, die Waschablage und die Waschflasche mit der übrigen Waschlösung im Gerät.

HINWEIS Die Sipper bleiben in der unteren Position, was normal ist. Lassen Sie die nicht verwendete Waschlösung in der Waschablage und der Waschflasche, um das Austrocknen der Sipper und das Eindringen von Luft in das System zu verhindern.

Durchführen eines Standbywaschlaufs

Wenn Sie das Gerät innerhalb der nächsten sieben Tage nicht verwenden möchten, bereiten Sie es über das Durchführen eines Standbywaschlaufs auf den Leerlaufmodus vor. Der Standbywaschlauf bereitet die Fluidikleitungen auf den Leerlaufmodus vor und führt zwei aufeinanderfolgende Waschläufe aus. Dabei werden aus allen Positionen vorhandene Reagenzienreste oder Salzansammlungen herausgespült. Jeder Waschlauf dauert etwa 60 Minuten. Planen Sie etwa zwei Stunden für die Durchführung des Standbywaschlaufs ein.

Wenn der Standbywaschlauf abgeschlossen ist, befindet sich das Gerät im Standbymodus und im Startbildschirm wird eine Meldung angezeigt, die den Status des Geräts angibt. Wenn sich das Gerät im Standbymodus befindet, muss ein Wartungswaschlauf durchgeführt werden, bevor ein Sequenzierungslauf initiiert werden kann.

HINWEIS Illumina empfiehlt eine Wiederholung des Standbywaschlaufs *alle 30 Tage*, in denen das Gerät nicht genutzt wird.

Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, Katalog-Nr. P7949)
- Wasser in Laborqualität oder deionisiertes Wasser (Richtlinien für Wasser in Laborqualität finden Sie im *Handbuch zur Standortvorbereitung für das MiSeqDx-System (Dokument Nr. 15070066_deu)*)

Verfahren

1. Stellen Sie sicher, dass sich eine gebrauchte Fließzelle im Gerät befindet.
2. Wählen Sie im Startbildschirm **Perform Wash** (Waschlauf durchführen).
3. Wählen Sie im Bildschirm „Wash Options“ (Waschoptionen) die Option **Standby Wash** (Standbywaschlauf). Die Software hebt automatisch die Sipper im Reagenzienkühler an.

HINWEIS Verwenden Sie stets für jeden der Waschschriffe eine frische Waschlösung. Wenn Waschlösung aus dem vorausgegangenen Waschlauf wiederverwendet wird, kann Abfall erneut in die Fluidikleitungen gelangen.

Durchführen des ersten Waschlaufs

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor:
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.
 - b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie mehrmals den Behälter zum Mischen.
2. Bereiten Sie die Waschlaufkomponenten mit einer frischen Waschlösung mit 0,5 % Tween 20 wie folgt vor:
 - a. Füllen Sie in jeden Behälter der Waschablage 6 ml Waschlösung.
 - b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.
3. Laden Sie die Waschablage und die Waschflasche in das Gerät:
 - a. Öffnen Sie die Klappe der Reagenzienkammer und des Reagenzienkühlers und schieben Sie die gebrauchte Reagenzienkartusche oder Waschablage aus dem Reagenzienkühler.
 - b. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.

- c. Heben Sie den Sipper-Griff vor der Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) und der Abfallflasche an, bis er einrastet, und tauschen Sie die Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) gegen die Waschflasche aus.

HINWEIS Entsorgen Sie die Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) nach jedem Lauf.
Verwenden Sie überschüssige MiSeqDx SBS Solution (PR2) nicht noch einmal.

- d. Entfernen Sie die Abfallflasche und entsorgen Sie den Inhalt ordnungsgemäß. Setzen Sie die Abfallflasche wieder in die Reagenzienkammer ein.
 - e. Drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten und stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
 - f. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
4. Wählen Sie **Next** (Weiter). Der erste Waschlauf beginnt.

Durchführen des zweiten Waschlaufs

1. Bereiten Sie eine frische Waschlösung mit Tween 20 und Wasser in Laborqualität wie folgt vor:
 - a. Fügen Sie 5 ml 100 % Tween 20 zu 45 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben 10 % Tween 20.
 - b. Fügen Sie 25 ml 10 % Tween 20 zu 475 ml Wasser in Laborqualität hinzu. Diese Volumina ergeben eine Waschlösung mit 0,5 % Tween 20.
 - c. Invertieren Sie mehrmals den Behälter zum Mischen.
2. Wenn der erste Waschlauf abgeschlossen ist, entfernen Sie die Waschablage und die Waschflasche und entsorgen Sie die verbleibende Waschlösung.
3. Füllen Sie die Waschlaufkomponenten wie folgt erneut mit einer frischen Waschlösung mit 0,5 % Tween 20:
 - a. Füllen Sie in jeden Behälter der Waschablage 6 ml Waschlösung.
 - b. Füllen Sie 350 ml Waschlösung in die 500-ml-Waschflasche.
4. Laden Sie die Waschablage und Waschflasche wie folgt:
 - a. Schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.
 - b. Laden Sie die Waschflasche und drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten. Stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
 - c. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
5. Wählen Sie **Next** (Weiter). Der zweite Waschlauf beginnt.

Nach dem Waschlauf

Wenn der Waschlauf abgeschlossen ist, lassen Sie die gebrauchte Fließzelle, die Waschablage und die Waschflasche mit der übrigen Waschlösung im Gerät.

HINWEIS Die Sipper bleiben in der unteren Position, was normal ist. Lassen Sie die nicht verwendete Waschlösung in der Waschablage und der Waschflasche, um das Austrocknen der Sipper und das Eindringen von Luft in das System zu verhindern.

Ausschalten des Geräts

Es empfiehlt sich, das Gerät immer eingeschaltet zu lassen. Wenn das Gerät jedoch ausgeschaltet werden muss, führen Sie die folgenden Schritte aus, um Windows zu beenden und die Fluidikleitungen vorzubereiten.

1. Führen Sie einen Wartungswaschlauf durch. Weitere Informationen finden Sie unter [Verfahren auf Seite 31](#).
2. Entfernen Sie die Abfallflasche und entsorgen Sie den Inhalt ordnungsgemäß. Setzen Sie die Abfallflasche wieder in die Reagenzienkammer ein.
3. Schließen Sie die Klappe der Reagenzienkammer.
4. Wählen Sie im Hauptmenü **Shut Down Instrument** (Gerät ausschalten). Daraufhin wird die Software beendet.
5. Schalten Sie den Netzschalter aus.

HINWEIS Warten Sie, wenn Sie das Gerät ausschalten, *mindestens* 60 Sekunden, bevor Sie den Netzschalter wieder einschalten.

Fehlerbehebung

Einleitung

In diesem Abschnitt sind die Schritte zur Behebung häufiger Fehler dargestellt, die Sie ausführen müssen, bevor Sie sich an den technischen Support von Illumina wenden. Bei den meisten Fehlern werden Anweisungen zur Behebung des Fehlers auf dem Bildschirm angezeigt.

Falls Sie technische Fragen haben, besuchen Sie die Supportseiten für das MiSeqDx auf der Illumina-Website. Die Supportseiten bieten Zugriff auf Dokumentation, Downloads und häufig gestellte Fragen. Melden Sie sich für den Zugang zu Supportbulletins bei Ihrem MyIllumina-Konto an.

Wenden Sie sich bei Problemen mit der Laufqualität oder Leistung an den technischen Support von Illumina. Weitere Informationen finden Sie unter [Technische Unterstützung auf Seite 52](#).

In der Regel bitten Mitarbeiter des technischen Supports von Illumina zu Fehlerbehebungs Zwecken um Kopien von laufspezifischen Dateien. Sie können die Funktion „Bundle Logs“ (Protokollbündel) im Bildschirm „Manage Files“ (Dateien verwalten) verwenden, um die zur Fehlerbehebung benötigten Dateien zu gruppieren und in einer ZIP-Datei zu speichern.

Bundle Logs (Protokollbündel) für die Fehlerbehebung

Bei den Bundle Logs (Protokollbündeln) handelt es sich um eine Funktion zum Bündeln von Dateien, um sie zwecks Fehlerbehebung an den technischen Support von Illumina zu senden. Verwenden Sie die Registerkarte „Bundle Logs“ (Protokollbündel) im Bildschirm „Manage Files“ (Dateien verwalten), um eine Gruppe von Dateien, ein so genanntes *Bundle* (Bündel), auszuwählen. Das Bündel wird automatisch in einer ZIP-Datei gespeichert.

Die Funktion „Bundle Logs“ (Protokollbündel) gruppiert die Dateien eines Laufs in einem Bündeltyp. Wiederholen Sie den „Bundle Logs“-Vorgang für jeden Lauf und Bündeltyp, den der technische Support von Illumina anfordert.

1. Wählen Sie im Bildschirm „Manage Files“ (Dateien verwalten) die Registerkarte „Bundle Logs“ (Protokollbündel).
2. Wählen Sie **Browse** (Durchsuchen), um zum Speicherort des Ordners „MiSeqOutput“ zu navigieren.
3. Aktivieren Sie das Kontrollkästchen neben dem Lauf.
4. Wählen Sie **Bundle Logs** (Protokollbündel).

Der Bildschirm „Bundle Files“ (Dateien bündeln) wird geöffnet. Er enthält Informationen über das Bündel, darunter eine Liste der einzelnen Dateien im Bündel.

Weitere Informationen zu den einzelnen Ordnern und Dateien der Funktion „Bundle Logs“ (Protokollbündel) finden Sie in *MiSeq Output and Analysis Folders Quick Reference Card (Schnellreferenzkarte zu MiSeq-Ausgabe- und -Analyseordnern)* (Dokument-Nr. 15034791).

5. Wählen Sie **Next** (Weiter).
6. Navigieren Sie zu dem Speicherort, an dem Sie die ZIP-komprimierten Bündeldateien speichern möchten.
7. Wählen Sie **Save** (Speichern).
Wenn das Bündeln der Dateien abgeschlossen ist, wird erneut die Registerkarte „Bundle Logs“ (Protokollbündel) geöffnet.
8. Senden Sie die ZIP-Datei mit dem Bündel an den technischen Support von Illumina.

Durchführen einer Systemprüfung

Einige Systemprüfungen können durchgeführt werden, bevor Sie sich an den technischen Support von Illumina wenden, wie beispielsweise der Volumentest. Bei einem Volumentest wird der Zustand des Fluidiksystems überprüft, indem das Fließvolumen anhand der Blasen, die die Sensoren passieren, geschätzt wird. Weitere Informationen finden Sie unter [Durchführen eines Volumentests auf Seite 43](#).



VORSICHT

Der Kipp-/Neigetest und der vollständige Optiktest erfordern eine spezielle Fließzelle und sollten nur von Illumina-Technikern durchgeführt werden.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Check** (Systemprüfung).
2. Verfahren Sie nach einer der folgenden Anweisungen:
 - Wählen Sie die einzelnen Tests aus, die Sie durchführen möchten.
 - Wählen Sie **Select All** (Alle auswählen), um alle Tests durchzuführen.
3. Wählen Sie **Next** (Weiter).
Nach Abschluss der Tests werden die Ergebnisse auf dem Bildschirm angezeigt.
4. [Optional] Wählen Sie **Show Details** (Details anzeigen), um eine Zusammenfassung der Ergebnisse in der Software-Benutzeroberfläche anzuzeigen.
5. [Optional] Wählen Sie **Export Results** (Ergebnisse exportieren), um die Ergebnisse in eine CSV-Datei auf einem USB-Stick zu exportieren.
6. Wählen Sie **Done** (Fertig).

Unterbrechen oder Anhalten eines Laufs

Das MiSeqDx-Gerät ist darauf ausgelegt, einen Lauf von Anfang bis Ende ohne Aktionen seitens des Benutzers auszuführen. Es ist jedoch möglich, einen Lauf über den Sequenzierungsbildschirm zu unterbrechen oder anzuhalten.

Unterbrechen eines Laufs

Sie können einen Lauf vorübergehend unterbrechen, bevor er abgeschlossen ist. Sie können dies beispielsweise tun, wenn Sie glauben, dass die Abfallflasche voll ist. Unterbrochene Läufe können wieder aufgenommen werden.

Wenn Sie **Pause** (Unterbrechen) wählen, wird der aktuelle Befehl zu Ende ausgeführt. Anschließend wird der Lauf unterbrochen und die Fließzelle in einen sicheren Zustand versetzt.



VORSICHT

Unterbrechen Sie einen Lauf *nicht* während der Clusterbildung oder innerhalb der ersten fünf Zyklen der Sequenzierung. Ein Lauf, der in dieser Phase unterbrochen wurde, kann nicht fortgesetzt werden.

Um einen Lauf vom Sequenzierungsbildschirm aus zu unterbrechen, wählen Sie **Pause** (Unterbrechen). Die Schaltfläche ändert sich in **Resume** (Fortsetzen).

Wenn Sie bereit sind, den Lauf fortzusetzen, wählen Sie **Resume** (Fortsetzen).

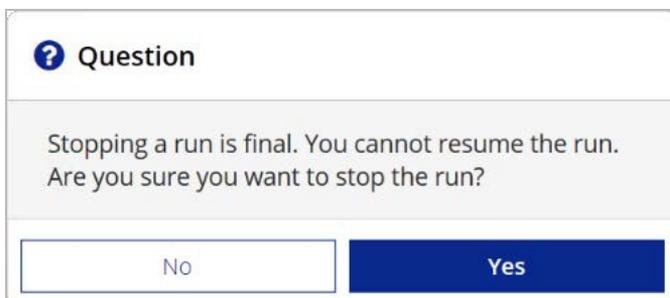
Anhalten eines Laufs

Während des Sequenzierungsvorgangs können Sie mithilfe der Schaltfläche **Stop** (Anhalten) im Sequenzierungsbildschirm einen Lauf stoppen, bevor er abgeschlossen ist. Sie können einen Lauf beispielsweise stoppen, wenn er falsch konfiguriert wurde, die Datenqualität schlecht ist oder ein Hardwarefehler auftritt.

Wenn ein Lauf angehalten wird, wird der aktuelle Befehl nicht zu Ende ausgeführt und der Fließzellentisch fährt in die Vorwärtsposition. Die Primäranalyse wird für den letzten abgeschlossenen Zyklus fortgesetzt.

Um einen Lauf vom Sequenzierungsbildschirm aus anzuhalten, wählen Sie **Stop** (Anhalten). Wenn ein Lauf angehalten wird, wird der aktuelle Befehl nicht zu Ende ausgeführt und der Fließzellentisch fährt in die Vorwärtsposition. Die Primäranalyse wird für den letzten abgeschlossenen Zyklus fortgesetzt.

Abbildung 16 Anhalten eines Laufs



Das Anhalten eines Laufs ist endgültig. Ein angehaltener Lauf kann nicht fortgesetzt werden. Sie haben nur die Möglichkeit, mit einem Gerätewaschlauf fortzufahren.

Manuelles Anheben der Sipper einer Reagenzienkartusche

Die Sipper der Reagenzienkartusche werden möglicherweise nicht automatisch angehoben, wenn ein Lauf unerwartet unterbrochen wird oder ein Fehler während des Laufs auftritt. Um die Reagenzienkartusche zu entfernen, heben Sie die Sipper der Reagenzienkartusche manuell an.

1. Wählen Sie im Startbildschirm **Perform Wash** (Waschlauf durchführen).
2. Wählen Sie **Raise Sippers** (Sipper anheben).
3. Entfernen Sie die Reagenzienkartusche.

Beheben von Laufkonfigurationsfehlern

Wenn Prüfungen des Selbsttests fehlschlagen, wird ein rotes Symbol **X** neben dem entsprechenden Element angezeigt. Auf dem Bildschirm wird eine Meldung angezeigt, die eine Beschreibung des Fehlers und der zur Behebung des Fehlers erforderlichen Maßnahme enthält.

Error (Fehler)	Maßnahme
X Flow Rate Measured (Gemessene Fließrate)	<p>Der Bildschirm zum Prüfen der Fließrate wird geöffnet. Geben Sie mithilfe der Dropdown-Liste oder der Bildschirmtastatur Folgendes ein:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Solution (Lösung): PR2 • Volume (Volumen): 250 • Aspirate Rate (Aspirationsrate): 2500 • Dispense Rate (Zufuhrtrate): 2500 <p>Wählen Sie Pump (Pumpe). Falls der Fehler weiterhin besteht, legen Sie ein Pumpvolumen von 500 µl MiSeqDx SBS Solution (PR2) fest und wiederholen Sie den Prozess. Wenn Flüssigkeiten gepumpt wurden, wählen Sie Restart Check (Prüfung neu starten).</p> <p>Wenn der Selbsttest erfolgreich verläuft, wird die Schaltfläche Start Run (Lauf starten) aktiviert.</p> <p>Falls die Flussprüfung erneut fehlschlägt, platzieren Sie die Fließzelle erneut, um sicherzustellen, dass der Fluss nicht aufgrund einer falschen Ausrichtung unterbrochen wurde. Überprüfen Sie die Fließzellendichtung auf Fusseln oder Unregelmäßigkeiten.</p>
X Free Disk Space (Speicherplatz freigeben)	<p>Bei geringem Speicherplatz wird eine Meldung angezeigt, die angibt, wie viel Speicherplatz erforderlich ist. Mit der Funktion Manage Files (Dateien verwalten) können Sie den erforderlichen Speicherplatz auf dem Gerätecomputer frei machen.</p>

Error (Fehler)	Maßnahme
✘ Network Connection Active (Netzwerkverbindung aktiv)	Stellen Sie sicher, dass das Netzkabel an das Gerät angeschlossen ist. Wenn die Netzwerkverbindung nicht wiederhergestellt wird, wählen Sie im Bildschirm „Manage Instrument“ (Gerät verwalten) die Option Reboot (Neustart), um die Software neu zu starten. Falls die Verbindung weiterhin nicht wiederhergestellt wird, wählen Sie im Bildschirm „Manage Instrument“ (Gerät verwalten) die Option Shut Down (Ausschalten) und schalten Sie das Gerät anschließend über den Netzschalter aus. Warten Sie mindestens 60 Sekunden. Schalten Sie dann das Gerät ein und starten Sie die Software.
✘ Primary Analysis Ready (Primäranalyse bereit)	Die Primäranalyse aus dem vorherigen Lauf ist noch nicht abgeschlossen. Standardmäßig ist eine Stunde für das Abschließen der Primäranalyse vorgesehen. Auf dem Bildschirm wird ein Countdown angezeigt. Sie haben die Möglichkeit, eine Stunde zu warten oder Terminate Analysis (Analyse beenden) zu wählen. Die Sekundäranalyse stoppt bei unvollständigen Zyklen.

Beheben von RFID-Lesefehlern

RFID-Fehler werden in den folgenden Fällen ausgelöst:

- Wenn die geladene Komponente nicht zu einem *In-vitro*-Diagnose-Kit gehört.
- Die geladene Komponente gehört nicht zu dem Kit, das im Local Run Manager-Modul angegeben ist.
- Wenn beim Lesen des RFID-Etiketts auf der Komponente ein technischer Fehler vorliegt.

Sie können die folgenden Schritte ausführen, um RFID-Fehler zu beheben, die aus einem technischen Fehler resultieren.

HINWEIS Bei einem Diagnoselauf ist ein RFID-Lesefehler zulässig. Wenn die RFID von zwei Verbrauchsmaterialien nicht gelesen werden kann, kann die Software nicht mit dem nächsten Schritt zum Einrichten des Laufs fortfahren. Wenden Sie sich bei Auftreten dieses Fehlers bitte an den technischen Support von Illumina.

Fließzelle

1. Versuchen Sie immer, den RFID-Lesevorgang erneut auszuführen, bevor Sie fortfahren. Öffnen Sie dazu die Klappe der Fließzellenkammer und schließen Sie sie wieder.
2. Falls das Lesen der RFID ein zweites Mal fehlschlägt, wählen Sie **Get Code** (Code abrufen). Wenden Sie sich an den technischen Support von Illumina, um einen temporären RFID-Bypass-Code zu erhalten. Ein temporärer Bypass-Code läuft nach sieben Tagen ab.

3. Geben Sie den temporären Bypass-Code mithilfe der Bildschirmtastatur ein.
4. Wählen Sie **Next** (Weiter).
5. Geben Sie folgende Informationen ein:
 - die Barcodenummer der Fließzelle, die sich auf dem Etikett des Fließzellenbehälters direkt unterhalb des Barcodes befindet
 - die Artikelnummer der Fließzelle
6. Wählen Sie **Next** (Weiter), um zum Bildschirm „Load Flow Cell“ (Fließzelle laden) zu wechseln.
7. Wählen Sie **Next** (Weiter), um mit dem nächsten Schritt zum Konfigurieren des Laufs fortzufahren.

Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2)

1. Versuchen Sie immer, den RFID-Lesevorgang erneut auszuführen, bevor Sie fortfahren. Heben Sie dazu den Reagenzien-Sipper-Griff an und senken Sie ihn anschließend wieder ab.
2. Falls das Lesen der RFID ein zweites Mal fehlschlägt, wählen Sie **Get Code** (Code abrufen). Wenden Sie sich an den technischen Support von Illumina, um einen temporären RFID-Bypass-Code zu erhalten. Ein temporärer Bypass-Code läuft nach sieben Tagen ab.
3. Geben Sie den temporären Bypass-Code mithilfe der Bildschirmtastatur ein.
4. Wählen Sie **Next** (Weiter).
5. Geben Sie folgende Informationen ein:
 - Barcodenummer der Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2), die sich auf dem Etikett der Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2) direkt unterhalb des Barcodes befindet
 - Artikelnummer der Flasche mit MiSeqDx SBS Solution (PR2)
6. Wählen Sie **Next** (Weiter), um zum Bildschirm „Load Reagents“ (Reagenzien laden) zu wechseln.
7. Wählen Sie **Next** (Weiter), um mit dem nächsten Schritt zum Konfigurieren des Laufs fortzufahren.

Reagenzienkartusche

1. Versuchen Sie immer, den RFID-Lesevorgang erneut auszuführen, bevor Sie fortfahren. Öffnen Sie dazu die Klappe des Reagenzienkühlers und schließen Sie sie wieder.
2. Falls das Lesen der RFID ein zweites Mal fehlschlägt, wählen Sie **Get Code** (Code abrufen). Wenden Sie sich an den technischen Support von Illumina, um einen temporären RFID-Bypass-Code zu erhalten. Ein temporärer Bypass-Code läuft nach sieben Tagen ab.
3. Geben Sie den temporären Bypass-Code mithilfe der Bildschirmtastatur ein.
4. Wählen Sie **Next** (Weiter).
5. Geben Sie folgende Informationen ein:
 - die Barcodenummer des Reagenzien-Kits, die sich auf dem Etikett des Kits direkt unterhalb des Barcodes befindet
 - die Artikelnummer des Reagenzien-Kits
6. Wählen Sie **Next** (Weiter), um zum Bildschirm „Load Reagents“ (Reagenzien laden) zurückzukehren.

7. Wählen Sie **Next** (Weiter), um mit dem nächsten Schritt zum Konfigurieren des Laufs fortzufahren.

Verhindern von Neustarts während eines Laufs

Wenn das MiSeqDx-Gerät während eines Laufs neu gestartet wird, ist die Windows Update-Software im Netzwerk möglicherweise so konfiguriert, dass Software-Updates automatisch installiert werden. Diese Einstellung hätte während der Installation deaktiviert werden sollen. Wenden Sie sich an die IT-Abteilung vor Ort, wenn Sie Hilfe beim Deaktivieren der automatischen Updates des Windows-Betriebssystems benötigen, das im Hintergrund auf dem MiSeqDx-Gerät ausgeführt wird.

Fehlerbehebung bei Fließratenfehlern

Die Fließrate ist die Geschwindigkeit, mit der Flüssigkeiten durch das Fluidiksystem fließen ($\mu\text{l}/\text{min}$). Sie wird vor jedem Lauf während des Selbsttests gemessen. Wenn das System die Fließrate nicht messen kann, pumpen Sie ein Reagenzienvolumen (MiSeqDx SBS Solution (PR2)) durch das System, bevor Sie die Fließrate erneut prüfen.

1. Geben Sie die folgenden Informationen mithilfe der Dropdown-Liste oder der Bildschirmtastatur ein:
 - Solution (Lösung): **PR2**
 - Volume (Volumen): **250 μl**
 - Aspirate Rate (Aspirationsrate): **2500 $\mu\text{l}/\text{min}$**
 - Dispense Rate (Zufuhrtrate): **2500 $\mu\text{l}/\text{min}$**
2. Wählen Sie **Pump** (Pumpe).
3. Wenn der Pumpschritt abgeschlossen ist, wählen Sie **Restart Check** (Prüfung neu starten).
4. Falls der Fehler weiterhin besteht, legen Sie ein Pumpvolumen von 500 μl MiSeqDx SBS Solution (PR2) fest und wiederholen Sie den Prozess. Wenden Sie sich bitte an den technischen Support von Illumina, wenn beim zweiten Versuch der Fehler nicht behoben wird.

Durchführen eines Volumentests

Verstopfungen in den Fluidikleitungen können zu einer schlechten Reagenzienzugabe führen und sich negativ auf die Sequenzierungsergebnisse auswirken. Wenn Sie eine Verstopfung in den Fluidikleitungen vermuten, führen Sie einen Volumentest durch.

Bei einem Volumentest wird der Zustand des Fluidiksystems überprüft, indem das Volumen zwischen zwei Blasen geschätzt wird, die die Sensoren passieren. Zur Durchführung eines Volumentests müssen die Waschablage und die Waschflasche mit Wasser in Laborqualität gefüllt und eine gebrauchte Fließzelle muss eingesetzt werden. Befolgen Sie die Anweisungen auf dem Bildschirm, um den Test durchzuführen.

1. Stellen Sie sicher, dass sich eine gebrauchte Fließzelle im Gerät befindet.

2. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Check** (Systemprüfung).
3. Wählen Sie **Conduct Volume Test** (Volumentest durchführen) und anschließend **Next** (Weiter).
4. Füllen Sie jeden Behälter der Waschablage mit 6 ml Wasser in Laborqualität.
5. Füllen Sie die 500-ml-Waschflasche mit 350 ml Wasser in Laborqualität.
6. Laden Sie die Waschablage und die Waschflasche in das Gerät.
 - a. Öffnen Sie die Klappe der Reagenzienkammer und des Reagenzienkühlers und schieben Sie die Waschablage bis zum Anschlag in den Reagenzienkühler. Schließen Sie die Klappe des Reagenzienkühlers.
 - b. Heben Sie den Sipper-Griff an, bis er einrastet, und laden Sie die Waschflasche.
 - c. Entfernen Sie die Abfallflasche und entsorgen Sie den Inhalt ordnungsgemäß. Setzen Sie die Abfallflasche wieder in die Reagenzienkammer ein.
 - d. Drücken Sie den Sipper-Griff langsam nach unten und stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
7. Entfernen Sie gemäß den Anweisungen auf dem Bildschirm ggf. vorhandene Tropfen wie folgt vom Waschflaschen-Sipper:
 - a. Wenn Sie dazu aufgefordert werden, heben Sie den Sipper-Griff langsam an und sehen Sie nach, ob sich am Waschflaschen-Sipper ein großer Wassertropfen befindet.
 - b. Wenn Sie dazu aufgefordert werden, senken Sie den Sipper-Griff langsam so weit in das Wasser ab, dass der Tropfen durch die Oberflächenspannung entfernt wird.
 - c. Wenn Sie dazu aufgefordert werden, heben Sie den Sipper-Griff langsam an und sehen Sie nach, ob sich am Waschflaschen-Sipper ein großer Wassertropfen befindet.
 - d. Wenn Sie dazu aufgefordert werden, drücken Sie den Sipper-Griff langsam vollständig nach unten und stellen Sie dabei sicher, dass die Sipper in die Waschflasche und in die Abfallflasche eintauchen.
8. Wählen Sie **Next** (Weiter). Der Volumentest beginnt.

Wenn der Volumentest beendet ist, werden die Ergebnisse auf dem Bildschirm angezeigt.

Wenn der Test nicht bestanden wurde, führen Sie einen Wartungswaschlauf durch. Weitere Informationen hierzu finden Sie unter [Verfahren auf Seite 31](#).
9. Wiederholen Sie nach Abschluss des Wartungswaschlaufs den Volumentest.

Beheben von Temperaturfehlern des Reagenzienkühlers

Der erforderliche Temperaturbereich des Reagenzienkühlers liegt zwischen 2 °C und 11 °C. Eine Sensoranzeige gibt die Temperatur des Reagenzienkühlers an. Weitere Informationen hierzu finden Sie unter [Sensoranzeigen auf Seite 5](#).

Wenn Sie eine Fehlermeldung erhalten, die besagt, dass sich der Kühler nicht im angegebenen Temperaturbereich befindet, wenden Sie sich an den technischen Support von Illumina.

Wenn die Kühlertemperatur außerhalb des zulässigen Bereichs liegt, kann dies den Start des Sequenzierungslaufs verhindern. Wenn Sie die Fehlermeldung während eines Sequenzierungslaufs erhalten, halten Sie den Lauf nicht an.

Weitere Informationen zum Reagenzienkühler finden Sie unter [Reagenzienkammer auf Seite 3](#).

Beheben von Local Run Manager-Analysefehlern

Wenden Sie sich für Informationen bezüglich Analysefehlern an den technischen Support von Illumina. Im *Local Run Manager v3 Software Reference Guide for MiSeqDx (Dokument-Nr. 200003931)* (Local Run Manager v3 Software-Referenzhandbuch für MiSeqDx) finden sich Anweisungen dazu, wie die Analyse erneut in die Warteschlange gestellt wird.

Konfigurieren der Systemeinstellungen

Das MOS hat zwei Registerkarten mit Befehlen zur Konfiguration des Systems.

- IP- und DNS-Einstellungen werden auf der Registerkarte „IP“ konfiguriert. Zum Verwenden dieser Funktion werden Administratorrechte für Windows benötigt.
- Die Netzwerk- und Starteinstellungen werden auf den folgenden Registerkarten konfiguriert:
 - Network Credentials (Netzwerkanmeldedaten): Zum Verwenden dieser Funktion werden Administratorrechte für Windows benötigt.
 - Start-Up Options (Startoptionen): Zum Verwenden dieser Funktion werden Administratorrechte für Local Run Manager benötigt.

In der Regel werden diese Systemeinstellungen während der MiSeqDx-Installation konfiguriert.

Konfigurieren von IP- und DNS-Einstellungen

Konfigurieren Sie die IP-Adresse sowie DNS-Serveradressen, wenn dies aufgrund einer Netzwerkänderung oder eines Standortwechsels erforderlich ist. Zum Konfigurieren dieser Funktion werden Administratorrechte für Windows benötigt.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Wählen Sie zum Einrichten der IP-Adresse die Registerkarte „IP“ und dann eine der folgenden Optionen:
 - **Obtain an IP address automatically** (IP-Adresse automatisch beziehen): Wählen Sie diese Option, um die IP-Adresse über den DHCP-Server (Dynamic Host Configuration Protocol) zu beziehen.

HINWEIS Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP) ist ein Standard-Netzwerkprotokoll, das auf IP-Netzwerken verwendet wird, um Netzwerkkonfigurationsparameter dynamisch zu verteilen.

- **Use the following IP address** (Folgende IP-Adresse verwenden): Wählen Sie diese Option, um das Gerät manuell mit einem anderen Server zu verbinden. Führen Sie hierzu die folgenden Schritte aus. Fragen Sie Ihren Netzwerkadministrator nach den entsprechenden Adressen Ihres Unternehmens.
 - Geben Sie die IP-Adresse ein. Eine IP-Adresse ist eine Reihe von vier Zahlen, die jeweils durch einen Punkt getrennt sind, z. B. 168.62.20.37.
 - Geben Sie die Subnetzmaske ein, die eine Untergruppe des IP-Netzes ist.
 - Geben Sie das Standard-Gateway ein, bei dem es sich um den Router im Netzwerk handelt, der die Verbindung mit dem Internet herstellt.
- 3. Wählen Sie zum Einrichten der DNS-Adresse eine der folgenden Optionen:
 - **Obtain a DNS server address automatically** (DNS-Server-Adresse automatisch beziehen): Liest die DNS-Adresse, die der IP-Adresse zugeordnet ist.
 - **Use the following DNS server addresses** (Folgende DNS-Server-Adressen verwenden): Verbindet das Gerät mit einem Server, der Domännennamen in IP-Adressen übersetzt.
 - Geben Sie die bevorzugte DNS-Adresse ein. Die DNS-Adresse ist der Name des Servers, der zum Übersetzen von Domännennamen in IP-Adressen verwendet wird.
 - Geben Sie die alternative DNS-Adresse ein. Die alternative Adresse wird verwendet, wenn der bevorzugte DNS-Server einen bestimmten Domännennamen nicht in eine IP-Adresse übersetzen kann.
- 4. Wählen Sie **Save** (Speichern).

Konfigurieren von Netzwerk- und Starteinstellungen

Konfigurieren Sie die Netzwerk- und Starteinstellungen auf der Registerkarte „Network Credentials“ (Netzwerk-Zugangsdaten) (zum Verwenden dieser Funktion werden Administratorrechte für Local Run Manager benötigt) und auf der Registerkarte „Start-Up Options“ (Startoptionen) (Administratorrechte für Local Run Manager erforderlich).

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **System Settings** (Systemeinstellungen).
2. Wählen Sie die Registerkarte „Network Credentials“ (Netzwerk-Zugangsdaten) und konfigurieren Sie dann die Netzwerkeinstellungen wie folgt.
3. Der Computername ist der Name, den der Gerätecomputer zum Zeitpunkt seiner Herstellung erhält. In der Regel ist es nicht erforderlich, den Computernamen zu ändern. Wenn Sie den Computernamen in diesem Bildschirm ändern, kann dies die Konnektivität beeinträchtigen. Außerdem werden hierfür der Benutzername und das Kennwort eines Netzwerkadministrators benötigt.
Der Computername wird in der Ausgabe der Local Run Manager-Software als Geräteiname angegeben.
4. Verbinden Sie den Gerätecomputer wie im Folgenden beschrieben mit einer Domäne oder Arbeitsgruppe.
 - **Bei Geräten, die mit dem Internet verbunden sind:** Wählen Sie **Domain** (Domäne) und geben Sie den Namen der Domäne ein, die der Internetverbindung Ihrer Einrichtung zugewiesen ist.
 - **Bei Geräten ohne Internetzugang:** Wählen Sie **Workgroup** (Arbeitsgruppe) und geben Sie den Namen einer Arbeitsgruppe ein.
5. Wählen Sie die Registerkarte „Start-Up Options“ (Startoptionen) und dann eine der folgenden Optionen:
 - **Kiosk Mode** (Kiosk-Modus) (empfohlen): Die Benutzeroberfläche der Steuerungssoftware wird als Vollbild angezeigt. Die Software ist für den Einsatz im Kiosk-Modus konfiguriert.
 - **Windows Mode** (Windows-Modus): Ermöglicht den Zugriff auf Windows auf dem Gerätecomputer. Dieser Modus kann eine veränderte Interaktion mit der Benutzeroberfläche der Software, z. B. andere Positionen der Schaltflächen, mit sich bringen.
6. Wählen Sie **Save** (Speichern).

Ausgabeordner

Laufordner

Bei jedem Lauf auf dem MiSeqDx-Gerät werden drei Laufordner erstellt, von denen jeder einen bestimmten Zweck erfüllt:

- **D:\Illumina\MiSeqTemp:** Wenn der Lauf beginnt, wird ein temporärer Laufordner auf das lokale Laufwerk des Gerätecomputers geschrieben und als Arbeitsbereich für MOS und RTA verwendet. Es muss nicht auf den Ordner „Temp“ zugegriffen werden. Der Inhalt dieses Ordners wird nach sieben Tagen gelöscht.
- **D:\Illumina\MiSeqOutput:** RTA kopiert Dateien aus dem Ordner „Temp“ in den Ausgabeordner („Output“). Wenn Primäranalysedateien generiert werden, kopiert RTA Dateien zurück in den Ordner „Temp“ und füllt den Analyseordner („Analysis“). Fokusbilder und Miniaturbilder werden nicht in den Analyseordner („Analysis“) kopiert.
- **D:\Illumina\MiSeqAnalysis:** Wenn die Primäranalyse abgeschlossen ist, greift Local Run Manager auf den Analyseordner („Analysis“) auf dem lokalen Laufwerk des Geräts zu, um mit der Sekundäranalyse zu beginnen. Alle Dateien, die in den Analyseordner („Analysis“) geschrieben werden, werden in den Ausgabeordner („Output“) kopiert.

Stammordner-Benennung

Der Name des Stammlaufordners gibt das Datum des Laufs, die Gerätenummer und die für den Lauf verwendete Fließzelle an. Die einzelnen Laufordner eines Laufs besitzen denselben Stammordnernamen.

Standardmäßig besitzt der Ordnername das folgende Format:

JJMMTT_<Gerätenummer>_<Laufnummer>_A<Barcode_der_Fließzelle>

Die Laufnummer wird jedes Mal, wenn ein Lauf auf einem beliebigen Gerät durchgeführt wird, um 1 erhöht.

Index

A

Abfallflasche 3
Anhalten eines Laufs 39
Arbeitsgruppenname 47
Ausschalten des Geräts 30, 36

B

Bundle Logs (Protokollbündel) 37

C

Clusterbildung 25
Clusterdichte 23

D

DNS-Adresse 46
Dokumentation 52
Domänenname 46-47

E

E-Mail-Warnungen 11

F

Fehlerbehebung
 Bundle Logs (Protokollbündel) 37
 Fließrate 43
 Fluidik 43
 Laufkonfigurationsfehler 40
 Laufspezifische Dateien 37
 RFID 41
Fließrate, Fehlerbehebung 43
Fließzelle
 Laden 19
 Reinigen 17
 Überblick 2

Fließzellen-Klappensensor 5
Fließzellenkammer 1-2
Fließzellenriegel 2
Fluidik
 Fehlerbehebung 43
 Waschlauf 30, 33
Forschungsmodus 7

G

Gerät in den Leerlauf versetzen 33
Gerät verwalten
 Arbeitsgruppe 47
 Domäne 47
 Domänenname 46
 Gerätename 47
 IP- und DNS-Adresse 46
 Startoptionen 47
 Systemeinstellungen 46
Geräteleistungsdaten 10

H

Hilfe, technische 52

I

Illumina Proactive-Überwachungsdienst 10
Intensitäten 25
IP-Adresse 46

K

Kioskmodus 47
Komponenten
 Fließzelle 2
 Fließzellenkammer 1-2
 Optikmodul 1
 Reagenzienkammer 1, 3
Kundendienst 52

L

Laden von Reagenzien
 Kartusche 22
 PR2 21
 SBS Solution 21
 Lauf starten 10
 Laufdauer 14
 Laufoptionen 10-11
 Laufordner
 Benennen 48
 Temp, Output, Analysis 48
 Local Run Manager-Software 3, 5

M

Matrizenbildung 25
 MiSeq Operating System Software 3

N

Nach Filterung (PF) 25
 Nachwaschung 25, 30
 Netzwerkeinstellungen 46
 Netzwerkverbindung 40
 Neu starten 7
 Neustarten im Forschungsmodus 7

O

Optikmodul 1

P

PR2, Laden 21
 Probenblatt 40

Q

Q-Scores 23, 25

R

Read-Länge 14
 Reagenzien
 Im Kit 12
 Reagenzienkammer 1, 3
 Reagenzienkühler, Temperatur 5
 Real-Time Analysis Software 3
 Laufordner 48
 Matrizenbildung 25
 RFID
 Fehlerbehebung 41
 Fließzelle 19
 PR2 21
 Reagenzienkartusche 22
 SBS Solution 21
 Richtlinien für Softwareeinschränkung 6
 Richtlinien für Wasser in Laborqualität 13

S

SBS Solution laden 21
 Sensoranzeigen 5
 Sequenzierungsbildschirm 23
 Sequenzierungszyklen 25
 Sipper-Griff 3
 Software
 Im Gerät 3
 Laufdauer 14
 Local Run Manager 3, 5
 MiSeqDx Operating Software 3
 Real-Time Analysis 3
 Überprüfen des Speicherplatzes 5
 Speicherplatz
 Überprüfen 5
 Wenig Speicherplatz 40
 SRP 6
 Standbywaschlauf 34
 Symbole
 Sensoren 5
 Systemeinstellungen 10, 45-47

T

Technische Unterstützung 52

U

Überwachen des Laufs 23

Unterbrechen eines Laufs 39

V

Verbrauchsmaterialien

 Vom Benutzer bereitzustellen 12

 Von Illumina bereitgestellt 12

 Wasser in Laborqualität 13

Volumentest 43

Vom Benutzer bereitzustellende

 Verbrauchsmaterialien 12

W

Wartungswaschlauf 30

Waschläufe

 Für das Ausschalten vorbereiten 36

 Für den Leerlauf vorbereiten 33

 Nachwaschung 25

 Nachwaschungseinstellungen 10-11

 Standby 30, 34

 Vorteile 25, 30

 Wartung 10-11, 30

Windows-Modus 47

Workflow

 Laufdauer 14

Z

Zyklen in einem Read 14

Technische Unterstützung

Wenn Sie technische Unterstützung benötigen, wenden Sie sich bitte an den technischen Support von Illumina.

Website: www.illumina.com

E-Mail: techsupport@illumina.com

Telefonnummern des technischen Supports von Illumina

Region	Gebührenfrei	International
Australien	+61 1800 775 688	
Belgien	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
China		+86 400 066 5835
Dänemark	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
Deutschland	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
Finnland	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
Frankreich	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
Großbritannien	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197
Hongkong, China	+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	
Kanada	+1 800 809 4566	
Malaysia	+60 1800 80 6789	
Neuseeland	+64 800 451 650	
Niederlande	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
Norwegen	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
Österreich	+43 800 006249	+43 1 9286540
Philippinen	+63 180016510798	

Region	Gebührenfrei	International
Schweden	+46 2 00883979	+46 8 50619671
Schweiz	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
Singapur	1 800 5792 745	
Spanien	+34 800 300 143	+34 911 899 417
Südkorea	+82 80 234 5300	
Taiwan, China	+886 8 06651752	
Thailand	+66 1800 011 304	
USA	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
Vietnam	+84 1206 5263	

Sicherheitsdatenblätter (SDS, Safety Data Sheets) sind auf der Illumina-Website unter support.illumina.com/sds.html verfügbar.

Die Produktdokumentation steht unter support.illumina.com zum Herunterladen zur Verfügung.



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, Kalifornien 92122, USA
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (außerhalb von Nordamerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

CE



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

Australische Niederlassung

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

FÜR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

© 2021 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

illumina[®]