illumina

iSeq 100 定序系統指南



文件 #100000036024 v07 CHT 2020 年 4 月 僅供研究使用。不可用於診斷程序。 ILLUMINA 所屬財產

此文件與其內容為 Illumina, Inc. 與其分支機構(「Illumina」)之專有財產,僅供客戶針對本文件所述之產品用途於契約 規範內使用,不得移作他用。此文件與其內容不得基於其他用途而使用或散播,和/或在未事先取得 Illumina 的書面同意 下,以任何方式流通、揭露或複製。Illumina 並未藉由本文件傳遞其專利、商標、版權或任何普通法權利或任何第三方之 類似權利的任何授權。

本文件的指示必須由受過適當訓練的合格人員嚴格且明確地遵守,以確保此處所述之產品的適當與安全使用。在使用該產品之前,必須完整閱讀與了解文件的所有內容。

若未全文閱讀並明確遵守此處的所有指示,可能造成產品損壞、人員受傷(包括使用者或其他人),以及其他財產損壞, 並導致產品保固失效。

對於不當使用本文所述產品(包括其零件或軟體)而造成的損失, Illumina 不承擔任何責任。

©2020 Illumina, Inc. 保留一切權利。

所有商標均為 Illumina, Inc.或其各自擁有者的財產。如需特定商標資訊,請參閱 www.illumina.com/company/legal.html。



文件	日期	變更內容說明
文件 #100000036024 v07	2020 年 4月	新增八包包裝的內容和存放資訊。 在稀釋說明中更新基因庫和 RSB 容量。
文件 #100000036024 v06	2020 年 4月	 更新支援 iSeq 100 i1 試劑 v2 之 iSeq 控制軟體 2.0 版的軟體說明。 將 iSeq 100 i1 試劑更換為下列組件: 適用於 iseq 100 i1 試劑 v2 的 Illumina 目錄 # 20031371。 適用於 iseq 100 i1 試劑 v2 的 Illumina 目錄 # 20031374。 新增軟體和試劑相容性的資訊。 新增 iSeq 100 i1 v2 匣的載入濃度。 新增 Nextera XT DNA 基因庫的稀釋說明。 新增符號以指示匣的正確存放方向。 將匣以 2° C至 8°C 的解凍時間上限延長至 1 週。 將可重複使用的測試組件之使用次數增加至 130 次。 將針對低多樣性基因庫的建議 PhiX 加入更新至 10%。 更新說明 iSeq 100 i1 v2 匣的圖像。 更新說明 iSeq 100 i1 v2 匣的圖像。 更新安裝軟體更新的指示,現在包括登錄編輯程式。 更新進階更換的相關資訊: 新增顯示流程概覽的流程圖。 列出完成退貨所需的文件。 釐清安排取件的方式。 說明生物安全等級 2 和 3 實驗室可能需要額外去汙程序。 將密碼要求和軟體限制原則 (SRP) 移至 <i>iSeq 100 定序系統現場準備指南 (文件 #10000035337)</i>
文件 #100000036024 v05	2019 年 3月	 更新 iSeq 控制軟體 1.4 版的軟體說明: 更新進行系統設定的說明,包括移動和重新命名某些使用者介面元件。 新增 %叢集 PF 和 %佔用率計量的說明,這些計量會顯示在 [Sequencing (定序)] 畫面中。 允許使用樣本表和輸出資料夾的對應網路磁碟機位置。 指出軟體會自動將樣本表重新命名為 SampleSheet.csv。 已將連結新增至下列頁面: 適用於手動模式的 iSeq 100 系統樣本表範本。 bcl2fast Conversion Software 支援頁面。 新增 1 奈莫耳 100% PhiX 的容積和 AmpliSeq Library PLUS for Illumina 基因庫以供配製。 新增還原至系統原廠設定時將 Local Run Manager 的參考基因組儲存庫移至 C 槽以外之其他位置的說明。 將索引讀數 1 和索引讀數 2 的建議循環上限各增加到 10 次循環。 將座支援的循環數增加至 322。 引用<i>叢集密度最佳化指南 (文件 #100000071511)</i>,以提供最佳載入濃度的詳細資訊。
文件 #100000036024 v05	2019 年 3月	說明要在水浴中解凍之前,匣必須存放在 -25℃ 至 -15℃ 的温度下至少 一天,然後再解凍。 將 AmpliSeq for Illumina Library PLUS 更正為 AmpliSeq Library PLUS for Illumina。

文件	日期	變更內容說明
文件 #100000036024 v04	2018 年 10月	加入 Nextera DNA Flex for Enrichment、TruSeq DNA Nano 和 TruSeq DNA PCR-Free 基因庫的建議載入濃度和稀釋說明。 加入有關使用不會產生單股基因庫的標準化方法資訊。 加入 Local Run Manager 和手動兩個執行模式的說明。 加入 5% PhiX 加入選項,並定義各個加入百分比的用途。 加入以下步驟: ·安裝控制軟體、分析模組及其他軟體時,切換至 sbsadmin 作業系統帳 戶。 ·恢復出廠設置時,關閉儀器再重新啟動。 請參閱 <i>Illumina 轉接序列(文件 #100000002694)</i> ,找出樣本表的索引 二(i5)方向。 釐清以下幾點: ·匣解凍後,必須立即使用。 ·Nextera DNA Flex 和 Nextera Flex for Enrichment 基因庫所列的載入濃 度,不適用於其他 Nextera 基因庫類型。 ·SureCell WTA 3' 不是相容的基因庫。
文件 #100000036024 v03	2018 年 8月	更新 iSeq 控制軟體 1.3 版的軟體說明: · 新增通用複製服務的設定說明。 · 將 [Network Configuration (網路設定)] 標籤重新命名為 [Network Access (網路存取)]。 · 新增從控制軟體開啟 Local Run Manager 的說明。 更新預設輸出資料夾為 D:\SequencingRuns。 新增系統連接至代理伺服器的說明。 新增為網路上的輸出資料夾和樣本表位置指定 UNC 路徑的要求。 指示在內建磁碟、外接磁碟或網路位置設定輸出文件夾位置的特殊要求。 說明如何在手動模式執行設定的第一步建立樣本表。 修正關於輸出縮圖檔案的說明。
文件 #100000036024 v02	2018 年 6月	將稀釋基因庫時使用的微量離心管更新為 Fisher Scientific, 目錄 # 14-222-158, 或同等的微量離心管。 新增章節, 說明進階更換的適用地區。 說明稀釋至載入濃度的基因庫必須在稀釋當天進行定序。 說明必須從盒子中取出試劑匣進行解凍。

文件	日期	變更內容說明
文件 #100000036024 v01	2018 年 5月	 更新 iSeq 控制軟體 1.2 版的軟體說明: 新增從控制軟體瀏覽至已下載軟體安裝程式的選項。 新增儲存縮圖的說明。 將網路設定務至 [Network Configuration (網路設定)] 標籤。 4對可重複使用的測試組件,將最大使用量增加為 36 次,並說明剩餘的 使用次數會顯示於畫面上。 更新 Local Run Manager 資訊: 新增開放 Local Run Manager 與設定執行的步驟。 新增 RNA Amplicon 做為預先安裝的分析模組,以及 DNA Enrichment 和 Resequencing 做為其他支援模組。 更新參考文件 Local Run Manager 軟體指南 (文件 #10000002722)。 更新密書文件 Local Run Manager 軟體指南 (文件 #100000002722)。 更新俚解凍說明: 新增室溫解凍的選項。 提供水浴的詳盡說明,包括解凍前的存放。 更新準備定序用墨因庫的說明: 將 Nextera DNA Flex 的載入濃度更新為 200 微微莫耳。 針對未列出的基因庫類型新增起始載入濃度。 新增有關 % 佔用率的資訊。 加入 1 奈莫耳 PhiX 的容量增加為 50 微升。 更新下列項目的 Illumina 目錄編號: iSeq 100 備用滴盤墊更新為 20023927。 iSeq 100 備用滴盤墊更新為 20023928。 更新濟管和滴管管尖建議。 新增下列其他說明: 進行驗證執行。 以手動模式定序時建立樣本表。 將控制軟體量小化以進入其他應用程式。 在系統檢查程序中新增下列步驟: 新除却重複使用測試流通池的碎屑。 重新編排下列內容使其一致: 將產執行 PhiX 的說明件入檯準定序說明。 ·將流通池準備說明佛入基因庫稀釋說明。 · 歷 PhiX 加入說明 · 移動讀數型的路證, Sequencing Output (定序輸出)]。 · 爾化錯誤訊。 · 移動讀數中的循環數相關資訊。 · 移動讀數中的循環數相關資訊。 · 移動讀數中的循環數相關資訊。 · 移動讀數中的循環數相關資訊。 · 移動讀數中的指示。 · 移動讀數中的循環數相關資訊。 · 移動讀數中的指示。 · 移動讀數中較,這一樣完統預設在桌面模式執行,不需使用平板模式。 · 移除關於在完定,不必證證,證書,2 GB。
文件 #100000036024 v00	2018 年 2月	初版。

目錄

章節 1 概響	1
单位 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	1
每小的资源	2
低八山莫你····································	2
我記令起	
15eq 100 11	/
章節 2 開始使用	11
首次設定	11
控制軟體最小化	11
執行設定	11
儀器自訂	14
網路設定	15
使用者提供的耗材和設備	17
音節 3 定宮	19
半時 V たり	10
间//	20
////////////////////////////////////	21
华佣派进心州举凶冲	
竹杙忉軟八凹	22
說正正序 别 行(于劉侯式)	
network data and the second	
章節 4 維護	30
章節 4 維護	30 30
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新	30 30 30
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網	
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器	
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 	
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 	
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 附錄 A 定序輸出 即時分析概覽	
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 附錄 A 定序輸出 即時分析概覽 即時分析概覽	30 30 31 33 35 35 35
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 附錄 A 定序輸出 即時分析概覽 即時分析工作流程	30 30 31 33 33 35 37
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 附錄 A 定序輸出 即時分析概覽 即時分析工作流程	
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 附錄 A 定序輸出 即時分析概覽 即時分析工作流程	30 30 31 33 35 35 37 40
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 附錄 A 定序輸出 即時分析概覽 即時分析工作流程 附錄 B 疑難排解 錯誤訊息解決方案	30 30 31 33 35 35 37 40 40
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 附錄 A 定序輸出 即時分析概覽 即時分析工作流程 附錄 B 疑難排解 錯誤訊息解決方案 取消已開始的執行	30 30 31 33 35 35 37 40 40 40
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 附錄 A 定序輸出 即時分析概覽 即時分析工作流程 附錄 B 疑難排解 錯誤訊息解決方案 取消已開始的執行 關閉儀器再重新啟動電源	
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 附錄 A 定序輸出 即時分析概覽 即時分析工作流程 附錄 B 疑難排解 錯誤訊息解決方案 取消已開始的執行 關閉儀器再重新啟動電源	
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 // 錄 A 定序輸出 即時分析概覽 即時分析工作流程 // 錄 B 疑難排解 錯誤訊息解決方案 取消已開始的執行 開閉儀器再重新啟動電源 執行系統檢查 減少漏液	30 30 31 33 35 35 37 40 40 40 41 42 44
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 附錄 A 定序輸出 即時分析概覽 即時分析工作流程 附錄 B 疑難排解 錯誤訊息解決方案 取消已開始的執行 關閉儀器再重新啟動電源 執行系統檢查 減少漏液 還原至原廠設定	30 30 31 33 35 35 37 40 40 40 41 42 44 46
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 附錄 A 定序輸出 即時分析概覽 即時分析工作流程 附錄 B 疑難排解 錯誤訊息解決方案 取消已開始的執行 關閉儀器再重新啟動電源 執行系統檢查 減少漏液 還原至原廠設定	30 30 31 33 35 35 37 40 40 40 41 44 46
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 的錄 A 定序輸出 即時分析概覽 即時分析工作流程 竹錄 B 疑難排解 錯誤訊息解決方案 取消已開始的執行 關閉儀器再重新啟動電源 執行系統檢查 減少漏液 還原至原廠設定 附錄 C 進階更換	30 30 31 33 35 35 37 40 40 40 40 41 42 44 44 44
章節 4 維護 清除硬碟空間 軟體更新 更換空氣濾網 挪動儀器 附錄 A 定序輸出 即時分析戰覽 即時分析工作流程 附錄 B 疑難排解 錯誤訊息解決方案 取消已開始的執行 關閉儀器再重新啟動電源 執行系統檢查 減少漏液 還原至原廠設定 附錄 C 進階更換 簡介	30 30 31 33 35 35 37 40 40 40 40 41 42 44 44 44 44

接收更換的系統 準備退還的原始系統 退還原始系統	47 47
索引	54
技術協助	

章節1概覽

簡介	1
額外的資源	2
儀器零組件	3
iSeq 100 i1 試劑	7

簡介

The Illumina[®] iSeq™ 100 定序系統為新一代定序(NGS) 提供目標式方法。這款以應用程式為主的系統將 Illumina 定序技術包裝為經濟實惠的桌面儀器。

功能

- ▶ **可存取性和可靠性** iSeq 100 系統不佔空間,而且可輕鬆安裝及使用。耗材內建流體和成像組件,簡化 儀器維護作業。
- **單步驟裝載耗材**一單次使用匣會預先裝入執行所需的各種試劑。基因庫和配有感應器的流通池會直接裝載 入匣中,然後裝載入儀器。整合式辨識可準確進行追蹤。
- ▶ iSeq 100 系統軟體 這套整合式軟體可控制儀器操作、處理影像並生成鹼基判定。本套件配有儀器上資料分析和資料轉移工具,可供外部分析使用。
 - ▶ **儀器上分析** 在 Local Run Manager 輸入樣本資訊後,使用針對該執行所指定的分析模組來分析執行 資料。本軟體包含全套的分析模組。
 - ▶ **雲端式分析** 定序工作流程整合了 BaseSpace Sequence Hub,可用於執行監控、資料分析、儲存 及合作的 Illumina 雲端運算環境。輸出檔案會即時串流到 BaseSpace Sequence Hub 進行分析。

採樣到分析

下圖說明從試驗性設計到分析資料的完整定序工作流程。每個步驟都附有相關工具和文件。本指南範圍涵蓋定 序基因庫的步驟。如需其他文件,請造訪 support.illumina.com。



5 分析資料

在本機或雲端分析定序輸出。 工具:Local Run Manager (本機軟體) 或 BaseSpace Sequence Hub (雲端式軟體) 文件:Local Run Manager 軟體指南或 BaseSpace Sequence Hub 線上說明

額外的資源

Illumina 網站的 iSeq 100 定序系統支援頁面可提供額外系統資源。其中包括軟體、訓練、相容產品及下列文件。請務必查看支援頁面取得最新版本。

資源	說明
Custom Protocol Selector	一種用於產生點對點說明的工具,該工具是專為基因庫準備方法、執行參數和分析 方法而設計,並具有可進一步提供更詳盡資訊的選項。
iSeq 100 定序系統設定佈告(文件 #1000000035963)	提供儀器安裝及首次設定的說明。
iSeq 100 定序系統現場準備指南 (文件 #100000035337)	提供實驗室空間、電氣要求,以及環境和網路的規格考量。
iSeq 100 定序系統安全及合規指南 (文件 #1000000035336)	提供有關操作安全注意事項、合規聲明和儀器標籤的資訊。
RFID 讀取器合規指南(文件 # 1000000002699)	提供儀器的 RFID 讀取器相關資訊,包括合規認證和安全注意事項。

儀器零組件

iSeq 100 定序系統包括電源按鈕、監視器、狀態列、耗材室以及滴盤。

圖 2 外部系統零組件



- A **電源按鈕** 控制儀器電源, 並指出系統是否開啟 (亮起)、關閉 (變暗) 或關閉但接有 AC 電源 (閃 爍)。
- B 觸控螢幕監視器 可進行儀器上的設定以及使用控制軟體介面進行設定。
- C 狀態列 指出系統狀態:準備定序(綠色)、處理中(藍色)或需要注意(橘色)。
- D 耗材室 包含執行時的耗材。
- E **滴盤門** 可處理承接漏液的滴盤。

電源和輔助連接

註

您可以移動儀器以便接觸 USB 連接埠及其他後側面板組件。

儀器背面設有可以控制儀器電源的開關和連接孔,以及選擇連接乙太網路時使用的乙太網路連接埠。兩個 USB 連接埠可讓您選擇連接滑鼠與鍵盤,或是使用可攜式裝置上傳和下載資料。



將系統接上鍵盤與滑鼠會取代螢幕鍵盤。



- A 乙太網路連接埠—可選擇連接乙太網路纜線。
- B USB 連接埠 連接輔助組件用的兩個連接埠。
- C 切換開關 開啟和關閉儀器電源。
- D AC 電源座-連接電源線。

耗材室

耗材室包含定序執行的匣。

圖 4 已載入耗材室



- A 匣 包含流通池、基因庫及試劑,並且收集執行時用過的試劑。
- B 托盤 定序時托住匣。
- C 門 開啟至 60 度可使用耗材室。

軟體可開啟和關閉耗材室門,並且為匣定位以進行成像。門從鉸鏈朝向儀器底部往下打開。請勿在開啟的門上 放置任何物品,門的設計無法當作支架使用。

可重複使用的測試流通池及測試匣

本儀器隨附 iSeq 100 可重複使用的測試流通池和 iSeq 100 可重複使用的測試匣,供系統檢查使用。在室溫下 依原有包裝存放,最多可使用 130 次。在系統檢查期間,軟體會顯示剩餘的使用次數。

圖 5 可重複使用的測試組件



- A 可重複使用的測試流通池
- B 可重複使用的測試匣

這些可重複使用的測試組件外觀與 iSeq 100 i1 試劑 v2 隨附的定序組件相似,而且載入方向也相同。但是測試 匣沒有基因庫貯池,測試組件也沒有執行所需的化學性質。

可重複使用的測試組件在製造日期的五年後即過期。將過期或已達使用次數上限的可重複使用測試組件更換成 iSeq 100 系統測試組件。

系統軟體

系統軟體套件包括可執行定序執行和儀器上分析的整合應用程式。

- iSeq Control Software 控制儀器的操作,並提供用於設定系統、設定定序執行及定序時監控執行統計資料的介面。
- ▶ Local Run Manager 定序前, 定義執行參數和分析方法。定序後, 儀器上資料分析自動開始。
 - ▶ 系統隨附已安裝 DNA Amplicon、RNA Amplicon及 Generate FASTQ 分析模組。
 - ▶ 系統也支援 DNA Enrichment and Resequencing (DNA 富集與重定序) 分析模組,這些模組可在 Local Run Manager 支援頁面取得。
 - ▶ 如需 Local Run Manager 和分析模組的更多資訊, 請參閱「Local Run Manager 軟體指南 (文件 # 100000002702)」。
- 即時分析(Real-Time Analysis, RTA2) 會在執行進行期間執行影像分析和鹼基判定。如需更多資訊,請 參閱第 35 頁 定序輸出。
- ▶ 通用複製服務 (Universal Copy Service) 將定序輸出檔案從執行資料夾複製到 BaseSpace Sequence Hub(若適用) 和輸出資料夾,您可以隨時加以存取。

即時分析和通用複制服務僅限執行背景處理。Local Run Manager 和控制軟體可能會需要使用者輸入。

系統資訊

您可以在控制軟體功能表的 [About (關於)] 部分, 查看 Illumina 聯絡資訊和下列系統資訊:

- ▶ 序號
- ▶ 電腦名稱和 IP 位址
- ▶ 配方片段版本
- ▶ 執行次數

通知和警示

儀器名稱旁會顯示圖示來表示通知。選擇該圖示可查看通知清單,包括警告和錯誤。

- ▶ 警告需要留意,但不會停止執行或要求執行確認以外的其他操作。
- 在開始或繼續執行之前,必須針對錯誤採取行動。

執行設定畫面左側的面板會顯示匣裝入和執行前檢查的特定警示。

圖 6 畫面位置



- A 執行設定警示
- B 其他通知

流程管理

[Process Management (流程管理)] 畫面會顯示硬碟 (D槽) 空間和執行狀態,並依據名稱、ID 及日期顯示 每個執行。此畫面每三分鐘會自動重新整理一次。

[Status (狀態)] 欄會根據 BCL 檔案的處理來說明執行是否正在運作或完成。[Process Management (流程 管理)] 也會針對每個執行顯示通用複製服務、BaseSpace Sequence Hub 及 Local Run Manager 的背景處理 狀態。

不適用的流程不會顯示在畫面上。例如,如果執行未連接到 BaseSpace Sequence Hub,則 [Process Management (流程管理)] 就不會顯示該執行的 BaseSpace Sequence Hub 狀態。

▶ 若要解決狀態問題,請參閱第 40 頁 流程管理狀態。

▶ 若要刪除執行及清除空間,請參閱第 30 頁 *清除硬碟空間*。

通用複製服務狀態

通用複製服務會顯示檔案複製到輸出資料夾的狀態:

- ▶ In Progress (進行中) 通用複製服務正在將檔案複製到輸出資料夾。
- ▶ Complete (完成) 通用複製服務成功將所有檔案複製到輸出資料夾。

BaseSpace Sequence Hub 狀態

BaseSpace Sequence Hub 顯示的上傳狀態:

- ▶ In Progress(進行中) 控制軟體正在將檔案上傳至 BaseSpace Sequence Hub。
- ▶ Complete (完成) 控制軟體已成功將所有檔案上傳至 BaseSpace Sequence Hub。

Local Run Manager 狀態

Local Run Manager 顯示控制軟體中的分析狀態:

- ▶ Not Started (未開始) 分析已排入開始佇列,或者 Local Run Manager 正在等候即時分析完成。
- ▶ In Progress(進行中)— Local Run Manager 正在分析檔案。查看 Local Run Manager 軟體以瞭解更詳細的狀態。
- ▶ Stopped (已停止) 分析已經停止,但未完成。
- ▶ Complete (完成) Local Run Manager 成功完成分析。

如需分析狀態的更多資訊,請參閱 Local Run Manager 軟體。

iSeq 100 i1 試劑

若要在 iSeq 100 系統上執行,必須使用 iSeq 100 i1 試劑 v2(單次使用試劑組)。此組件提供一種尺寸(300次循環)和三種包裝:

- ▶ **單包** 提供一次執行所需的耗材。
- ▶ **四包** 提供四次執行所需的耗材。
- ▶ **八包** 提供八次執行所需的耗材。

內容物和存放

iSeq 100 i1 試劑 v2 提供定序用的匣及流通池。

包裝	數量	零組件	儲存溫度
單包	1	匣	-25°C 至 -15°C
	1	流通池	2°C 至 8°C*
四包	4	匣	-25°C 至 -15°C
	4	流通池	2°C 至 8°C*
八包	8	匣	-25°C 至 -15°C
	8	流通池	2°C 至 8°C*

*在室溫下運送。

當您收到 iSeq 100 i1 試劑 v2 時,請依照適當條件將零組件妥善儲存,以確保適當效能:

- ▶ 儲存在指定的溫度中。
- ▶ 除非經過指示,否則請勿打開白色錫箔包裝。請將匣置於袋中解凍。
- ▶ 放置匣時請將包裝標籤朝上。
- ▶ 進行水浴解凍前,請將匣存放至少一天。

流通池

iSeq 100 i1 流通池經過模式化,而單通道流通池建構時設有互補性金屬氧化半導體 (CMOS) 光學感應器。塑 膠匣可裝入玻璃式流通池。塑膠上凸起的握點可確保安全處理。



- A 握點
- B CMOS 感應器(上方)
- C 成像區域
- D 墊片(兩個中的一個)
- E CMOS 感應器 (底部)
- F 電子介面

數百萬個奈米井覆蓋流通池的表面。奈米井中會產生叢集,接著會執行定序反應。依序排列的奈米井可增加輸 出讀數和資料。CMOS 感應器會在定序期間擷取影像進行分析。

為追蹤和確保相容性,流通池採用電子介面:電子抹除式可複寫唯讀記憶體 (EEPROM)。

甲

iSeq 100 i1 匣已預先充填叢集、定序、雙端及索引試劑。已為基因庫保留以錫箔密封的貯池,也為流通池保留 前方插槽。照明器燈光可透過匣上方的工作窗口到達流通池。



- A 工作窗口
- B 流通池插槽
- C 基因庫貯池

此匣可容納執行用的所有耗材:試劑、基因庫及流通池。 基因庫和流通池會裝載入已解凍的匣中,然後裝載 在儀器上。無線射頻辨識系統 (RFID) 可確保相容性和追蹤。

開始執行後,試劑和基因庫會自動從匣轉移到流通池。底部貯池會收集使用過的試劑。此匣亦包含泵浦、閥以 及系統的所有其他流體。執行後便可棄置匣,因此不必清洗儀器。

軟體相容性

解凍試劑並設定執行之前,請確定系統已升級至與組件相容的版本。如需升級資訊,請參閱第 30 頁 軟體更新「軟體更新」。

組件	相容軟體
iSeq 100 i1 試劑 v2	iSeq 控制軟體 v2.0, 或更新版本
iSeq 100 i1 試劑(v1)	iSeq 控制軟體 v1.2, 或更新版本

支援的循環數

試劑匣上的 300 循環標籤代表已分析的循環數,並非執行過的循環數。因此, 匣提供的試劑足以執行高達 322 次的定序循環。

這 322 次循環包括分別用於讀數 1 和讀數 2 的 151 次循環,加上分別用於索引 1 和索引 2 的 10 次循環。如需 有關定序循環數的資訊,請參閱第 19 頁 建議的循環數。

流通池與所有循環數和所有讀數類型相容。

符號說明

下表說明耗材或耗材包裝上的各種符號。

符號	說明
<u>11</u>	表示存放時哪一面應朝上。
	耗材的到期日。為得到最佳結果,請於此日期之前使用耗材。
	代表製造商(Illumina)。
\sim	耗材的製造日期。
RUO	耗材僅供研究使用(RUO)。
REF	代表用於辨識耗材的零件編號。*

符號	說明
LOT	代表用於辨識耗材製造批次或批號的批次代碼。*
\triangle	代表需要小心使用。
	代表具有健康危害。
	儲存溫度範圍(以攝氏度為單位)。請將耗材儲存於指定的範圍內。

* REF 是指個別零組件,而 LOT 則是指零組件所屬的批號或批次。

章節 2 開始使用

.11
.11
.11
.14
15
17

首次設定

首次開啟系統時,控制軟體會啟動一連串的畫面,以引導您完成首次設定。首次設定包括執行系統檢查來確認 儀器效能,以及進行系統設定。

如果要在首次設定後修改系統設定,請在控制軟體中選擇 [System Settings (系統設定)] 指令。此指令會開 啟 [Settings (設定)]、[Network Access (網路存取)] 及 [Customization (自訂)] 標籤,您可以在這些位 置存取所有控制軟體設定和 Windows 網路設定。

作業系統帳戶

Windows 作業系統有兩種帳戶:管理員(sbsadmin)及標準使用者(sbsuser)。首次登入時作業系統會要求 變更兩個帳戶的密碼。

管理員帳戶用於 IT 用途、系統更新,以及安裝控制軟體、Local Run Manager 分析模組及其他軟體。使用者帳 戶可執行所有其他功能,包括定序。

驗證執行

在首次定序試驗基因庫前,可以選擇進行驗證執行。驗證執行 100% PhiX 的定序作為對照基因庫,以確認系統 運作。如需相關說明,請參閱第 19 頁 *定序*。

控制軟體最小化

將控制軟體最小化以進入其他應用程式。例如, 在 [File Explorer (檔案瀏覽器)] 瀏覽至輸出資料夾或找出樣 本表。

- 1 在觸控螢幕往上滑動以開啟 Windows 工作列。
- 選擇 iSeq 100 System 圖示或其他應用程式。
 控制軟體會最小化。
- 3 [選用] 將鍵盤和滑鼠接上儀器,以便於控制軟體外進行瀏覽及輸入。

4 如果要最大化控制軟體,請向上滑動並選擇 iSeq 100 系統。

執行設定

在 [System Settings (系統設定)] 的 [Settings (設定)] 標籤中,設定執行設定、執行監控及資料分析的選 項。此標籤會顯示建議的快速設定,您可以選擇快速設定選項來套用。您也可以選擇手動設定選項來自訂設 定。 選擇快速設定會套用下列設定並將 InterOp 檔案、記錄檔、儀器效能資料及執行資料傳送至 BaseSpace Sequence Hub:

- ▶ Illumina Proactive Support 有利於疑難排解並偵測可能的故障情形,以利主動維護作業進行並有效延長 儀器正常運作時間。開啟 Illumina Proactive Support 即可將儀器效能資料(而非定序資料)傳送至 BaseSpace Sequence Hub。如需詳細資訊,請參閱 Illumina Proactive 技術說明(文件 # 100000052503)。
- ▶ Local Run Manager 使用 Local Run Manager 軟體建立執行並分析執行資料,以實現簡化的簡易工作流程。不需要額外的樣本表和分析應用程式。
- ▶ Remote Run Monitoring (遠端執行監控) 使用 BaseSpace Sequence Hub 進行遠端執行監控。
- Run Analysis, Collaboration, and Storage (執行分析、共同協作及儲存) 使用 BaseSpace Sequence Hub 儲存和分析執行資料,並與同事共同協作。



執行完成後, Local Run Manager 會自動開始分析。不過,您也可以在 BaseSpace Sequence Hub 中分析 資料。

套用快速設定

快速設定會使用 BaseSpace Sequence Hub 的建議執行設定和本地化設定來取代目前的執行設定。使用者必 須有網際網路連線和 BaseSpace Sequence Hub 帳戶才能進行這些設定。如需帳戶設定說明,請參閱 BaseSpace Sequence Hub 線上說明 (文件 #100000009008)。

- 1 在控制軟體功能表中,選擇 [System Settings (系統設定)]。
- 2 在 [Settings (設定)] 標籤中, 選擇 [Use Express Settings (使用快速設定)]。
- 3 在 [Set Region (設定地區)] 清單中, 選擇系統所在的地理位置或最靠近系統所在地的位置。 此設定可確保資料儲存在 BaseSpace Sequence Hub 的適當位置。
- 4 如果您有企業版訂閱,請在 [Enter Private Domain (輸入私人網域)] 欄位中,輸入用於 BaseSpace Sequence Hub 單一登入的網域名稱 (URL)。
 例如: https://yourlab.basespace.illumina.com。
- 5 選擇 [Next (下一步)]。
- 6 檢查設定。修改設定:
 - a 選擇 [Edit (編輯)] 以開啟設定。
 - b 視需要修改設定,然後選擇 [Next (下一步)]。
 - c 選擇 [Next (下一步)], 以繼續前往任何後續畫面。
 - 在 [Settings Review (設定檢查)] 畫面中,綠色核取記號表示已啟用的設定。
- 7 選擇 [Save (儲存)]。
- 8 若要關閉 [System Settings (系統設定)],請選擇 [Exit (結束)]。

手動配置設定

手動設定會引導您瞭解 [Settings (設定)] 標籤中的每個畫面以進行執行設定, 其中包含以下要求:

▶ 若要開啟 Illumina Proactive 支援和 BaseSpace Sequence Hub,必須有網際網路連線。要使用 BaseSpace Sequence Hub 必須有帳戶。如需帳戶設定說明,請參閱 BaseSpace Sequence Hub 線上說 明(文件 # 100000009008)。

- ▶ 當系統設定為手動模式時,若要使用 BaseSpace Sequence Hub 進行資料分析,則必須有樣本表。如需 詳細資訊,請參閱第 14 頁 *樣本表要求*。
- 1 在控制軟體功能表中,選擇 [System Settings (系統設定)]。
- 2 選擇 [Set Up Manually (手動設定)]。
- 3 選擇是否要啟用 Illumina Proactive Support 服務:
 - ▶ 若要將其開啟,請選擇 [Turn on Illumina Proactive Support (開啟 Illumina Proactive 支援)] 核取方 塊。
 - ▶ 若要將其關閉,請取消選擇 [Turn on Illumina Proactive Support (開啟 Illumina Proactive 支援)] 核 取方塊。

此服務可將儀器效能資料 (例如溫度和執行時間) 傳送至 Illumina。這些資料有助於 Illumina 偵測可能的 故障情形,並順利進行疑難排解。執行資料不會傳送。如需詳細資訊,請參閱 *Illumina Proactive 技術說明* (文件 #100000052503)。

- 4 選擇 [Next (下一步)]。
- 5 選擇是否要將執行連線至 BaseSpace Sequence Hub:
 - ▶ 若要將執行連線,請選擇下列其中一個核取方塊:
 - ▶ Turn on run monitoring from anywhere only (僅開啟從任一處執行監控) 使用 BaseSpace Sequence Hub 進行遠端監控。
 - ▶ Turn on run analysis, collaboration, and storage also (同時開啟執行分析、共同協作及儲存) 使 用 BaseSpace Sequence Hub 進行遠端監控和分析。
 - ▶ 若要中斷執行的連線,請取消選擇 [Turn on run monitoring from anywhere only (僅開啟從任一處執行 監控)] 和 [Turn on run analysis, collaboration, and storage also (同時開啟執行分析、共同協作及儲 存)] 核取方塊。

連線後,控制軟體即可將 InterOp 檔案和記錄檔傳送至 BaseSpace Sequence Hub。執行分析、共同協作及儲存選項亦會傳送執行資料。

- 6 在 [Set Region (設定地區)] 清單中, 選擇系統所在的地理位置或最靠近系統所在地的位置。 此設定可確保資料儲存在 BaseSpace Sequence Hub 的適當位置。
- 7 如果您有企業版訂閱,請在 [Enter Private Domain (輸入私人網域)] 欄位中,輸入用於 BaseSpace Sequence Hub 單一登入的網域名稱 (URL)。
 例如: https://yourlab.basespace.illumina.com。
- 8 選擇 [Next (下一步)]。
- 9 選擇是否要整合控制軟體與 Local Run Manager:
 - ▶ 若要在 Local Run Manager 中建立執行及分析資料,請選擇 [Use Local Run Manager (使用 Local Run Manager)]。
 - ▶ 若要在控制軟體中建立執行,並在其他應用程式中分析資料,請選擇 [Use Manual Mode (使用手動 模式)]。

Local Run Manager 可提供最簡化的工作流程,但它並非控制軟體的功能,而是整合式軟體,可記錄定序 樣本、建立執行及分析資料。定序前,請檢閱 Local Run Manager 軟體指南 (文件 # 100000002702)。

- 10 選擇 [Next (下一步)]。
- 11 檢查設定。修改設定:
 - a 選擇 [Edit (編輯)] 以開啟設定。
 - b 視需要修改設定,然後選擇 [Next (下一步)]。
 - c 選擇 [Next (下一步)], 以繼續前往任何後續畫面。

在 [Settings Review (設定檢查)] 畫面中,綠色核取記號表示已啟用的設定。

12 選擇 [Save (儲存)]。

13 若要關閉 [System Settings (系統設定)], 請選擇 [Exit (結束)]。

樣本表要求

若系統設定為手動模式,且您要在 BaseSpace Sequence Hub 中分析資料時,每個執行都必須有樣本表。您可以透過編輯 *iSeq 100 系統手動模式用樣本表範本*來建立樣本表,然後在執行設定期間將其匯入控制軟體。 匯入後,軟體會自動將樣本表重新命名為 SampleSheet.csv。

從 iSeq 100 定序系統支援頁面下載樣本表範本: 適用於手動模式的 iSeq 100 系統樣本表範本。



請以 iSeq 100 定序系統的正確方向輸入索引 2(i5) 轉接序列。關於索引方向的說明,請參閱 Illumina 轉 接序列(文件 #100000002694)。

當系統設定為 Local Run Manager 模式時,也需要樣本表。但是 Local Run Manager 會建立樣本表並儲存至適 當位置。除此之外,樣本表為選用選項。

儀器自訂

在 [System Settings (系統設定)] 的 [Customization (自訂)] 標籤中,為儀器命名並進行音訊、縮圖影像 及軟體更新的設定。

為儀器命名

- 1 在控制軟體功能表中,選擇 [System Settings (系統設定)]。
- 2 選擇 [Customization (自訂)] 標籤。
- 3 在 [Instrument Nickname (儀器別稱)] 欄位中輸入想要的儀器名稱。 此名稱會在每個畫面上方顯示。
- 4 選擇 [Save (儲存)]。
- 5 若要關閉 [System Settings (系統設定)], 請選擇 [Exit (結束)]。

開啟或關閉音訊

- 1 在控制軟體功能表中,選擇 [System Settings (系統設定)]。
- 2 選擇 [Customization (自訂)] 標籤。
- 3 選擇是否將系統靜音:
 - ▶ 若要關閉音訊,請選擇 [Off (關閉)]。
 - ▶ 若要開啟音訊,請選擇 [On (開啟)]。
- 4 選擇 [Save (儲存)]。
- 5 若要關閉 [System Settings (系統設定)], 請選擇 [Exit (結束)]。

儲存縮圖

- 1 在控制軟體功能表中,選擇 [System Settings (系統設定)]。
- 2 選擇 [Customization (自訂)] 標籤。
- 3 選擇是否儲存縮圖影像:

- 若要儲存所有縮圖,請選擇 [Save all thumbnail images (儲存所有縮圖影像)] 核取方塊。
 若不儲存縮圖,請取消選擇 [Save all thumbnail images (儲存所有縮圖影像)] 核取方塊。
 儲存縮圖影像有助於進行疑難排解,但會稍微增加執行大小。依預設,所有縮圖影像都會儲存。
- 4 選擇 [Save (儲存)]。
- 5 若要關閉 [System Settings (系統設定)], 請選擇 [Exit (結束)]。

配置軟體更新

系統會自動檢查並下載軟體更新以便您安裝,或者您也可以手動檢查。如需詳細資訊,請參閱第 30 頁 軟體 更新。

- 1 在控制軟體功能表中,選擇 [System Settings (系統設定)]。
- 2 選擇 [Customization (自訂)] 標籤。
- 3 選擇是否由系統自動檢查軟體更新:
 - 若要自動檢查,請選擇 [Autocheck for software updates (自動檢查軟體更新)] 核取方塊。
 若要手動檢查,請取消選擇 [Autocheck for software updates (自動檢查軟體更新)] 核取方塊。
 要使用自動檢查必須有網際網路連線。
- 4 選擇 [Save (儲存)]。
- 5 若要關閉 [System Settings (系統設定)], 請選擇 [Exit (結束)]。

網路設定

只要有 WiFi或乙太網路連線及預設的網路設定,便能夠操作系統和傳輸資料。除非貴組織有自訂網路需求,否則無須更新這些設定。若需要變更網路預設值,請諮詢IT人員。

iSeq 100 定序系統現場準備指南 (文件 #100000035337) 提供網路設定和控制電腦安全性的相關指導原 則。

指定輸出資料夾位置

通用複製服務(Universal Copy Service) 會將執行資料夾的定序輸出檔案複製到 BaseSpace Sequence Hub(若適用),而且您可以存取這些檔案的輸出資料夾。

除非系統設定為使用通用複製服務(BaseSpace Sequence Hub)進行執行監控、分析、共同協作及儲存, 否則必須有輸出資料夾。如果未指定輸出資料夾的位置,則通用複製服務(Universal Copy Service) 會將檔 案複製到 D:\SequencingRuns。

- 1 在控制軟體功能表中,選擇 [System Settings (系統設定)]。
- 2 選擇 [Network Access (網路存取)] 標籤。
- 3 在 [Output Folder (輸出資料夾)] 欄位中輸入位置,或選擇 [Browse (瀏覽)], 瀏覽至需要的位置。
 - ▶ Internal drive (內建磁碟) 輸入 D 槽的現有位置。C 槽空間不足。
 - ▶ External drive (外接磁碟) 輸入與儀器連接的 USB 隨身碟位置。
 - ▶ 網路位置 輸入需要的網路位置。

您可以變更每個執行的預設位置。

- 4 請依照以下說明進行。
 - ▶ 如果您已指定內建或外接磁碟機位置,請選擇 [Save (儲存)],然後選擇 [Exit (結束)] 以儲存位置 並關閉 [System Settings (系統設定)]。
 - ▶ 如果已指定網路位置,請繼續進行步驟 5 至 8,將通用複製服務 (Universal Copy Service) 連接至 可以存取指定位置的帳戶。

- 5 在通用複製服務(Universal Copy Service)中,選擇帳戶類型:
 - ▶ [Local System Account (本機系統帳戶)] 輸出資料夾位於本機帳戶可使用的目錄中, 該帳戶可存 取大部分本機位置。
 - ▶ Network Account (網路帳戶) 輸出資料夾位於需要登入憑證的目錄中。 此設定適用於預設的輸出資料夾位置,以及在執行設定期間指定的任何位置。
- 6 如果選擇 [Network Account (網路帳戶)], 請輸入該帳戶的使用者名稱和密碼。
- 7 選擇 [Save (儲存)]。
- 8 若要關閉 [System Settings (系統設定)], 請選擇 [Exit (結束)]。

連接至網際網路

在 Windows [網路和網際網路] 設定中設定 Wi-Fi 或乙太網路連線,您可從控制軟體開啟這些設定。使用預設乙太網路連線傳輸資料較為可靠。

- 1 在控制軟體功能表中,選擇 [System Settings (系統設定)]。
- 2 選擇 [Network Access (網路存取)] 標籤。
- 3 選擇 [Network Configuration (網路設定)],這項操作會將控制軟體最小化,並開啟 Windows 網路和網際網路設定。
- 4 設定 WiFi 或乙太網路連線。
 - ▶ 如果設定為 WiFi, 請將配接器選項改為 Wi-Fi。
 - ▶ 詳細設定說明請參考 Microsoft 網站的 Windows 10 說明。
- 5 完成設定後, 關閉 Windows 設定並將控制軟體最大化。
- 6 在 [Network Access (網路存取)] 標籤上, 選擇 [Save (儲存)]。
- 7 若要關閉 [System Settings (系統設定)], 請選擇 [Exit (結束)]。

連接至代理伺服器

- 1 控制軟體最小化。
- 2 從 Windows [Start (開始)],開啟 [Run (執行)]對話方塊。
- 3 輸入 cmd, 然後選擇 [OK (確定)]。
- 4 輸入以下指令:
 - C:\windows\System32\bitsadmin.exe /Util /SetIEProxy LocalSystem Manual_proxy http://<proxyserver>:<proxy port> NULL
- 5 請於 http://<proxyserver>:<proxy port> 輸入代理伺服器位址和代理連接埠,如果有旁路則加上 NULL。
- 6 按下 Enter 以執行指令。
- 7 關閉儀器再重新啟動電源。如需相關說明,請參閱第 41 頁 關閉儀器再重新啟動電源。

使用者提供的耗材和設備

定序用耗材

耗材	供應商	用途
無粉末的拋棄式手套	一般實驗室供應商	一般用途。
iSeq 100 i1 試劑 v2	lllumina,目錄 #: · 20031371 (300 循環,單包) · 20031374 (300 循環,四包) · 20040760 (300 循環,八包)	提供一次執行用的試劑及流通池。
微量離心管, 1.5 毫升	Fisher Scientific, 目錄 #14-222-158, 或同等的 微量離心管	將基因庫稀釋為載入濃度。
紙巾	一般實驗室供應商	在浸水後將匣擦乾。
滴液管尖,20 微升	一般實驗室供應商	稀釋並載入基因庫。
滴液管尖,100 微升	一般實驗室供應商	稀釋並載入基因庫。
再懸浮緩衝液(RSB)	lllumina,隨附於基因庫準備組件	將基因庫稀釋為載入濃度。
[選用] 10 mM Tris-HCl,pH 8.5	一般實驗室供應商	取代 RSB 用於將基因庫稀釋為載 入濃度。
[自選] PhiX 對照 v3	lllumina, 目錄 #FC-110-3001	僅執行 PhiX 或加入 PhiX 對照。

維護及疑難排解耗材

耗材	供應商	用途
漂白水擦拭巾, 10%	VWR, 目錄 # 16200-218, 或同等者	去除儀器汙染並清潔工作表面。
無粉末的拋棄式手套	一般實驗室供應商	一般用途。
iSeq 100 備用滴盤墊 '	lllumina, 目錄編號 20023927	鋪設滴盤以吸收任何滲漏的液體。
iSeq 100 備用空氣濾網'	lllumina, 目錄編號 20023928	每六個月更換空氣濾網。
iSeq 100 系統測試套件 [*]	lllumina, 目錄 #20024141	執行系統檢查。
異丙醇酒精擦拭巾(70%)	VWR, 目錄 #95041-714, 或同等者	擦拭儀器和可重複使用的測試流通池。
低棉絮實驗室拭紙	VWR, 目錄 # 21905-026, 或同等者	擦乾滴盤和可重複使用的測試流通池。
紙巾	一般實驗室供應商	擦乾儀器周圍的液體。
[選用] 漂白劑溶液(10%)	WWR, 目錄 #16003-740 (32 oz)、 16003-742 (16 oz) 或同等者	去除汙染後清潔工作表面。
[選用] 乙醇擦拭巾(70%)	Fisher Scientific,目錄 #19-037-876,或 同等者	取代異丙醇酒精擦拭巾來擦拭儀器和可重 複使用的測試流通池。

'儀器送達時已安裝一組,並隨附一組備用。如果儀器不在保固期限內,使用者需自行更換。使用前請勿將備用品從包裝中取出。

² 請在可重複使用的測試組件於 5 年後過期時, 或使用次數達 130 次時將其更換。

設備

項目	來源	用途
冷凍庫, -25℃ 至 -15℃	一般實驗室供應商	用於存放匣。
冰桶	一般實驗室供應商	放置基因庫備用。

項目	來源	用途
滴管,10微升	一般實驗室供應商	將基因庫稀釋為載入濃度。
滴管,20微升	一般實驗室供應商	將基因庫稀釋為載入濃度。
滴管,100 微升	一般實驗室供應商	將基因庫稀釋為載入濃度。
冷藏庫, 2℃至8℃	一般實驗室供應商	存放流通池。
[選用] 鍵盤	一般實驗室供應商	作為螢幕鍵盤的補充裝置。
[選用] 滑鼠	一般實驗室供應商	作為觸控螢幕介面的補充裝置。
[選用] 水浴器	一般實驗室供應商	讓匣解凍。

章節 3 定序

簡介	
解凍袋裝匣	
準備流通池和基因庫	
將耗材載入匣	
設定定序執行(Local Run Manager)	24
設定定序執行(手動模式)	

簡介

iSeq 100 系統的定序由叢集生成、定序及分析組成。每個步驟都會在定序執行時自動發生。根據系統設定而 定,完成執行後可在儀器外進行進一步分析。

- ▶ **叢集生成** 基因庫自動變性成單股,並且在儀器上進一步稀釋。叢集生成期間,單一 DNA 分子和流通池 的表面結合,並且經放大而形成多個叢集。
- 定序 叢集使用單一染料化學進行成像,此方式藉由一種螢光標籤和兩次成像循環,對四種核苷酸資料進行編碼。第一次成像循環會偵測 Adenine (A) 和 Thymine (T)。化學循環接下來會裂解 A 的染料,同時將相似的染料加入 Cytosine (C)。第二次成像循環則會偵測 C 和 T。經過第二次成像循環之後,即時分析軟體便接著執行鹼基判定、篩選及品質評分。每個定序循環都會重覆此流程。如需單一染料化學的詳細資訊,請參閱第 38 頁 *鹼基判定*。
- 分析一執行進行時,控制軟體會自動將鹼基判定檔案(*.bcl)轉移至指定的輸出資料夾以進行資料分析。資料分析方法取決於應用程式和系統設定。

載入容積和濃度

載入容量為20微升。載入濃度會因基因庫類型和匣而異。

1 註

如果您已在 iSeq 100 i1 試劑 v1 找到最符合您需要的載入濃度,則建議您在 iSeq 100 i1 試劑 v2 定序 時也以相同的載入濃度開始。

基因庫類型	載入濃度(微微莫耳)
100% PhiX (適用於僅限 PhiX 執行)	100
AmpliSeq Library PLUS for Illumina	40-60
Nextera DNA Flex	75-125
Nextera Flex for Enrichment	50-100
Nextera XT DNA	100-200
TruSeq DNA Nano	125-175
TruSeq DNA PCR-Free	75-125

若為其他基因庫類型,Illumina 建議使用 50 微微莫耳作為初始載入濃度。請在後續執行中讓載入濃度達到最佳 狀況,以確定載入濃度可穩定產生符合規格的資料。

載入濃度太高或太低都無法產生最佳的叢集和執行計量。如需詳細資訊,請參閱*叢集最佳化概覽指南 (文件 # 1000000071511)*。

建議的循環數

對於每個讀數,請輸入最少 26 個循環、最多 151 個循環,以最佳化資料品質。精確的循環數需依據您的實驗 而定。 最少和最多循環數包含額外循環。請務必在需要的讀數長度上多加一個循環,以修正定相和定相超前的效果。 讀數長度是讀數一和讀數二中的*定序*循環數,不包含額外循環和索引循環。 執行設定範例:

▶ 若讀數長度為 36 (單一讀數),請在讀數一欄位中輸入 37。

▶ 如果每個讀數的讀數長度為 (雙端),請在讀數一欄位中輸入 151,在讀數二欄位中輸入 151。

定序要求

- ▶ 處理試劑和其他化學物質時,請穿戴護目鏡、實驗衣及無粉末手套。請依照系統提示更換手套,避免交叉 汙染。
- ▶ 開始協定之前,請務必備妥需要的耗材和設備。請參閱第 17 頁 使用者提供的耗材和設備。
- ▶ 請使用指定的容量、溫度和期間,並依照指示的順序遵循協定。
- ▶ 除非指出停止點,否則請立即進行下一步驟。
- ▶ **如果您打算在水浴中讓匣解凍**,請將匣存放在 -25°C 至 -15°C 的環境下至少一天,然後再解凍。水浴是三個解凍方法中最快的方法。

解凍袋裝匣

- 1 戴上一雙無粉末的新手套。
- 2 將匣從 -25°C 至 -15°C 的儲存庫中取出。
- 3 如果匣為盒裝,請從盒子中取出匣,但請勿打開白色錫箔袋。



4 使用下列其中一種方法來解凍包裝內的試劑匣。 解凍後立即使用,不重新冷凍或以其他方式儲存。

方法	解涷時間	指示
20°C 至 25°C 水浴	6 小時,請勿超過 18 小時	 ・每個試劑匣使用 6 公升(1.5 加侖)的水。 ・將溫度控制的水浴設定為 25℃ 或將熱水和冷水混合,以達到 20℃ 至 25℃。 ・包裝標籤朝上,將匣完全浸入水中,並施加約 2 公斤(4.5 磅) 的重量以防止匣浮出。 ・除非在溫度控制的情況,否則請勿將試劑匣堆放在水浴中。
2℃至8℃冷藏	36 小時,請勿超 過 1 週	請將試劑匣的包裝標籤朝上放置,讓空氣可以任一側(包括底部) 循環。
室溫空氣	9 小時, 請勿超過 18 小時	請將試劑匣的包裝標籤朝上放置,讓空氣可以任一側(包括底部) 循環。



匣在運送時會儲存在乾冰上,如果到貨後直接使用水浴解凍,會對性能產生不利影響。解凍之前,請 存放在 -25°C 至 -15°C 的環境下至少一天。

5 如果水浴後包裝弄濕,請使用紙巾擦乾。

警告

準備流通池和基因庫

將流通池和基因庫載入匣之前,請將流通池置於室溫下,稀釋基因庫並可選擇加入 PhiX。儀器上的基因庫會自 動變性。

稀釋說明適用於受 Illumina 支援的雙股基因庫。請隨時執行品質管制分析,為您的基因庫調整最適合的載入濃度,並使用產生雙股基因庫的標準化方法。產生單股基因庫的珠粒式標準化與儀器上的變性不相容。

將基因庫稀釋至1奈莫耳

- 1 依照下述方法準備流通池。
 - a 從 2°C 至 8°C 儲存庫中取出新的流通池。
 - b 將未開封的包裝放在室溫下約 10-15 分鐘。
- 2 從 -25℃至 -15℃ 的儲存庫中取出再懸浮緩衝液 (RSB)。 或者,使用 10 mM Tris-HCl, pH 8.5 取代 RSB。
- 3 【**選用】**將 10 奈莫耳 PhiX 從 -25°C 至 -15°C 的儲存庫中取出。 PhiX 只有選用加入或僅執行 PhiX 時需要。
- 4 將 RSB 和選用的 PhiX 放在室溫下解凍 10 分鐘。
- 5 在微量離心管中,將 RSB 中 1 奈莫耳 基因庫稀釋至適用的容量:

基因庫類型	1 奈莫耳基因庫的容量 (微升)*
100% PhiX (適用於僅限 PhiX 執行)	12
AmpliSeq Library PLUS for Illumina	7
Nextera DNA Flex	12
Nextera Flex for Enrichment	10
Nextera XT DNA	20
TruSeq DNA Nano	20
TruSeq DNA PCR-Free	12

* 為了準確滴液,容量已涵蓋超出量。

成功定序取決於在微量離心管中稀釋基因庫。

- 6 稍微晃動混合後,在280×g的情況下離心處理1分鐘。
- 7 【選用】將1奈莫耳基因庫存放在-25°C至-15°C,最久不超過一個月。

將1 奈莫耳基因庫稀釋為載入濃度

1 在微量離心管內,按照以下容量注入液體,以配製稀釋至適用載入濃度的 100 微升基因庫:

基因庫類型*	載入濃度(微微莫耳)	1 奈莫耳基因庫容量(微升)	RSB 容量(微 升)
100% PhiX (適用於僅限 PhiX 執行)	100	10	90
AmpliSeq Library PLUS for Illumina	40-60	5	95
Nextera DNA Flex	75-125	10	90
Nextera Flex for Enrichment	50-100	7.5	92.5
Nextera XT DNA	100-200	15	85
TruSeq DNA Nano	125-175	15	85

基因庫類型*	載入濃度(微微莫耳)	1 奈莫耳基因庫容量(微升)	RSB 容量(微 升)
TruSeq DNA PCR-Free	75-125	10	90

這些表格列出載入濃度的範例。iSeq 100 系統與所有 Illumina 基因庫準備組件相容 (SureCell WTA 3/ 除外),但最佳載入濃度可能會根據基因庫類型而有所不同。

2 稍微攪拌後在 280 × g 的情況下離心處理 1 分鐘。

3 將稀釋的基因庫放到冰上進行定序。在稀釋基因庫當天隨即進行定序。

4 如果您沒有要加入 PhiX 或僅執行 PhiX, 請跳過下一節, 參閱第 22 頁 將耗材載入匣。

加入 PhiX 對照(選用)

PhiX 是一種小型、即用型的 Illumina 基因庫,具有平衡的核苷酸表現。將 2% 的 PhiX 加入基因庫,可提供其他指標。若為低多樣性基因庫,請採用 10% 加入以增加鹼基多樣性。



加入低至 1% 即可提供其他指標, 但會難以滴入。

- 1 在微量離心管內, 注入以下容積的液體, 以配製 50 微升 1 奈莫耳 PhiX:
 - ▶ 10 奈莫耳 PhiX (5 微升)
 - ▶ RSB (45 微升)
- 2 稍微晃動混合後,在280×g的情況下離心處理1分鐘。
- 3 【選用】將 1 奈莫耳 PhiX 存放在 -25°C 至 -15°C 的環境, 最久不超過 1 個月。
- 4 在微量離心管內, 注入 1 微升 PhiX 和 RSB, 配製稀釋成和基因庫一樣載入濃度的 100 微升 PhiX。 例如:

PhiX 載入濃度(微微莫耳)	1 奈莫耳 PhiX 容量(微升)	RSB 容量(微升)
25	2.5	97.5
50	5	95
70	7	93
80	8	92
100	10	90
115	11.5	88.5
200	20	80

5 結合 PhiX 和基因庫:

▶ 2% 加入,請將 2 微升的稀釋 PhiX 加入 100 微升的稀釋基因庫。

▶ 10% 加入,請將 10 微升的稀釋 PhiX 加入 100 微升的稀釋基因庫。 實際 PhiX 百分比則視基因庫的品質和數量而定。

- 6 稍微攪拌後在 280 × g 的情況下離心處理 1 分鐘。
- 7 將加入 PhiX 的基因庫放到冰上。

將耗材載入匣

- 1 [選用] 欲觀看匣準備及載入的教學影片,請選擇定序。
- 2 從缺口處撕開匣包裝。

- 3 避免觸碰匣上方的工作窗口,將匣從包裝中取出,並棄置包裝。
- 4 倒置匣五次以混合試劑。
 倒置時內部元件會發出響聲,此為正常現象。
- 5 標籤朝上,在工作台或其他堅硬表面上輕敲匣五次以確保試劑吸入。

載入基因庫

1 使用新的滴管管尖刺穿基因庫貯池,並將錫箔推至邊緣以擴大開口。



- 2 棄置滴管管尖以避免污染。
- 3 將 20 微升稀釋的基因庫加入貯池**底部。**避免接觸錫箔。



裝載流通池

- 1 從缺口處撕開白色錫箔流通池包裝。請在打開後 24 小時內使用。
- 2 將流通池從包裝中拉出。
 - ▶ 處理流通池時只能觸碰塑膠的部分。
 - ▶ 請避免觸碰電子介面、CMOS 感應器、玻璃及玻璃兩側的墊片。



- 3 標籤朝上,從握點握住流通池。
- 4 將流通池插入匣前方的插槽。

聽到卡住的聲音表示流通池已卡入定位。如果正確裝入,夾片會從匣中突出,也可以從工作窗口看到玻 璃。



- A 載入流通池
- B 已載入流通池
- 5 請依照下列方式棄置包裝。
 - a 從錫箔包裝中取出殼狀容器。
 - b 從殼狀容器中取出乾燥劑。
 - c 回收殼狀容器, 並棄置錫箔包裝和乾燥劑。
- 6 後續操作取決於系統是否與 Local Run Manager 整合:
 - ▶ 如果使用 Local Run Manager, 請依照第 24 頁 設定定序執行 (Local Run Manager)。
 - ▶ 如果未使用 Local Run Manager, 請依照第 27 頁 設定定序執行 (手動模式)。

設定定序執行(Local Run Manager)

使用 Local Run Manager 設定執行,即包括在 Local Run Manager 中建立和儲存該執行,然後返回控制軟體以 載入耗材,並選擇執行。資料會儲存至指定的輸出資料夾以供分析,而 Local Run Manager 會在執行完成後自 動執行分析。

1 在儀器本機監視器開啟 Local Run Manager, 或從另一台電腦遠端開啟:

存取	開啟 Local Run Manager
本機	從控制軟體功能表,選擇【Local Run Manager】,然後選擇【 開啟 Local Run Manager】。
遠端操作	從控制軟體功能表,選擇 [About(關於)] 取得系統 IP 位址。 使用與儀器連接至相同網路的電腦,在 Chromium 開啟 Local Run Manager。使用系統 IP 位址進 行連接。

- 2 如果儀器監視器上的 Chromium 顯示為空白,請關閉儀器再重新啟動並重新開始執行設定。如需相關說明,請參閱第 41 頁 關閉儀器再重新啟動電源。
- 3 在 Local Run Manager 建立並儲存執行。
 - ▶ 如需相關說明,請參閱 Local Run Manager 軟體指南 (文件 #100000002702)。
 - ▶ 將僅 PhiX 執行設定為非編製索引。
 - Local Run Manager 會自動將已儲存的執行傳送至控制軟體。
- 4 在控制軟體中,選擇 [Sequence (定序)]。 本軟體會以某個角度開啟門、退出托盤並啟動一系列的執行設定畫面。
- 5 **[選用]** 選擇 **[Help (說明)]** 檢視螢幕上的指示。 說明提示會顯示在每個畫面中以提供補充性指引。

將匣載入儀器

- 1 確認匣已解凍,並包含流通池和稀釋的基因庫。
- 2 將匣放在托盤上,讓工作窗口朝上,同時流通池位於儀器內。請勿將匣或托盤推入儀器。



3 選擇 [Close Door (**關門**)] 可將匣收回並關門。 畫面左側會出現一個面板,顯示已掃描耗材的資訊。

登入 BaseSpace Sequence Hub

系統設定為 [Run Monitoring (執行監控)] 或 [Run Monitoring and Storage (執行監控和儲存)] 時, 會顯示 BaseSpace Sequence Hub 畫面。

- 若要從 BaseSpace Sequence Hub 中斷目前執行的連線,請選擇 [Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In (略過 BaseSpace 系列中心登入)]。
 儀器效能資料仍會傳送至 Illumina。
- 2 若要變更目前執行的連線功能,請選擇一個設定選項:
 - ▶ Run Monitoring Only (僅執行監控) 僅將 InterOp 檔案傳送至 BaseSpace Sequence Hub, 以進行 遠端監控。
 - Run Monitoring and Storage (執行監控和儲存) 將執行資料傳送至 BaseSpace Sequence Hub, 以 進行遠端監控和分析。
- 3 輸入您的 BaseSpace Sequence Hub 憑證, 然後選擇 [Sign In (登入)]。
- 4 如果系統顯示 [Available Workgroups (可用的工作群組)] 清單,請選擇一個要上傳執行資料的工作群組。

若您隸屬於多個工作群組,系統才會顯示該清單。

5 選擇 [Run Setup (執行設定)]。

選擇執行

- 1 如果出現 Local Run Manager 登入畫面:
 - a 輸入使用者名稱和密碼。
 - b 選取 Log In (燈)。

Local Run Manager 設定為要求登入時,系統便會顯示該畫面。依預設,登入並非必要。

- 2 從 Run Name (執行名稱)清單選擇一項執行,此清單會列出 Local Run Manager 中已設定的執行清單。
 - ▶ 若要更新此清單,請選擇 [Refresh (**重新整理)]**。

▶ 若要填寫空白清單,請選擇 [Open Local Run Manager (開啟 Local Run Manager)] 以建立執行。 選擇 Open Local Run Manager 會將控制軟體最小化,並在 Chromium 中開啟 Local Run Manager。

- 3 如果離開控制軟體建立執行,請返回並選擇執行。選擇 [Refresh (重新整理)] 以更新清單。
- 4 [選用] 選擇 [Edit (編輯)] 然後修改執行參數:
 - a 若要變更 [Read Type (讀數類型)],請選擇 [Single Read (單端讀數)] 或 [Paired End (雙端)]。
 - b 若要變更 [Read Cycle (讀數循環)],請分別為讀數 1 和讀數 2 輸入 26 151 循環。在所需的循 環數上多加一個循環。
 - c 若要變更目前執行的輸出資料夾,請輸入位置的路徑或選擇 [Browse (瀏覽)],然後瀏覽至該位置。
 - d 選擇 [Save (儲存)], 在控制軟體和 Local Run Manager 中更新執行內容。
- 5 選擇 [Start Run (開始執行)],以啟動執行前檢查。

檢視執行前檢查

執行前檢查儀器檢查和流量檢查。流量檢查會刺穿匣封口並將試劑通過流通池,因此開始進行流量檢查後,耗 材便無法重複使用。

等候約 15 分鐘,待執行前檢查作業完成。
 順利完成後會自動開始執行。除非系統靜音,否則提醒音響起表示執行已開始。



執行前檢查或執行期間打開門會造成執行失敗。

- 2 如果儀器檢查期間發生錯誤,請選擇 [Retry (**重試**)] 重新執行檢查。 在流量檢查前進行儀器檢查。檢查期間,檢查列會跳動。
- 3 如果錯誤再次發生,請參閱第 40 頁 錯誤訊息解決方案來進行疑難排解。

監視執行進度

1 在循環 26 次後, 監控顯示在 [Sequencing (定序)] 畫面中的執行進度和計量。

計量	說明
%Q30 讀數 1	Q-評分 ≥ 30 的讀數 1 鹼基判定百分比。
%Q30 讀數 2	Q-評分 ≥ 30 的讀數 2 鹼基判定百分比。
%叢集 PF	通過品質濾網的叢集百分比。
%佔用率	包含叢集的流通池各井百分比。
預計的總產量	執行的鹼基判定預期數量。

2 若要監控檔案複製和其他執行流程,請選擇控制軟體功能表,然後選擇 [Process Management (流程管理)]。

卸除耗材

- 1 定序完成後,選擇 [Eject Cartridge (退出試劑匣)]。 軟體會從儀器中退出使用過的試劑匣。
- 2 從托盤將匣取出。
- 3 請取出匣中的流通池,
- 4 根據所在地區的適用標準棄置內含電子組件的流通池。
- 5 根據所在地區的適用標準棄置內含用過的試劑的匣。 流體會隨著試劑匣棄置,因此執行後清洗並非必要程序。

警告 警告

這組試劑可能含有有害的化學物質。吸入、誤食、皮膚接觸與眼睛接觸都可能造成人員傷害。為避免 曝露於危險之中,請穿戴適當的保護設備,包括護眼罩、手套和實驗衣。將使用過的試劑視為化學廢 棄物處理,並按照適用的地區、國家和當地法律與規定棄置。如需其他環境、健康和安全資訊,請參 閱 SDS,網址是: support.illumina.com/sds.html。

6 選擇 [Close Door (關門)] 可重新裝載托盤並返回 [Home (首頁)] 畫面。 軟體會自動重新裝載托盤,且感應器會確認試劑匣已取出。

設定定序執行 (手動模式)

在手動模式中設定執行是指在控制軟體中指定執行參數,並使用所選的應用程式來執行儀器外分析。軟體會將 資料儲存至輸出資料夾以進行分析。若要產生 FASTQ 檔案,則必須執行額外的步驟。

- 1 如果系統設定為使用 BaseSpace Sequence Hub 進行執行分析、共同協作及儲存,請建立用於執行的樣本表:
 - a 從 iSeq 100 軟體下載頁面下載 iSeq 100 系統手動模式用樣本表範本。
 - b 依照需要修改範本。 請確認:
 - ▶ 索引二 (i5) 轉接序列的方向正確。關於方向的說明,請參閱 Illumina 轉接序列 (文件 # 100000002694)。
 - ▶ 樣本表值與控制軟體值相符。例如,在樣本表和執行設定畫面的讀數一欄位中輸入 151。
 - c 將範本儲存為 CSV 檔案格式。
- 2 在控制軟體中,選擇 [Sequence (定序)]。 本軟體會以某個角度開啟門、退出托盤並啟動一系列的執行設定畫面。
- 3 **[選用]** 選擇 **[Help (說明)**] 檢視螢幕上的指示。 說明提示會顯示在每個畫面中以提供補充性指引。

將匣載入儀器

- 1 確認匣已解凍,並包含流通池和稀釋的基因庫。
- 2 將匣放在托盤上,讓工作窗口朝上,同時流通池位於儀器內。請勿將匣或托盤推入儀器。



3 選擇 [Close Door (關門)] 可將匣收回並關門。 畫面左側會出現一個面板,顯示已掃描耗材的資訊。

登入 BaseSpace Sequence Hub

系統設定為 [Run Monitoring (執行監控)] 或 [Run Monitoring and Storage (執行監控和儲存)] 時, 會顯 示 BaseSpace Sequence Hub 畫面。

- 1 若要從 BaseSpace Sequence Hub 中斷目前執行的連線,請選擇 [Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In (略過 BaseSpace 系列中心登入)]。 儀器效能資料仍會傳送至 Illumina。
- 2 若要變更目前執行的連線功能,請選擇一個設定選項:
 - ▶ Run Monitoring Only (僅執行監控) 僅將 InterOp 檔案傳送至 BaseSpace Sequence Hub, 以進行 遠端監控。
 - ▶ Run Monitoring and Storage (執行監控和儲存) 將執行資料傳送至 BaseSpace Sequence Hub, 以進行遠端監控和分析。
- 3 輸入您的 BaseSpace Sequence Hub 憑證, 然後選擇 [Sign In (登入)]。
- 4 如果系統顯示 [Available Workgroups (可用的工作群組)] 清單,請選擇一個要上傳執行資料的工作群 組。

唯有您隸屬於多個工作群組時,系統才會顯示該清單。

5 選擇 [Run Setup (執行設定)]。

輸入執行參數

- 在 [Run Name (執行名稱)] 欄位中,輸入您想要用於識別目前執行的慣用唯一名稱。
 執行名稱可包含英數字字元、連字號和底線。
- 2 對於讀數類型,請選擇下列其中一個選項:
 - ▶ **單一讀數** 執行單一定序讀數,這是比較快速、簡單的選項。
 - ▶ 雙端 執行兩個定序讀數, 可產生品質較高的資料, 校準時也更加精確。
- 3 對於讀數循環,請在每個讀數中輸入要執行的循環數。
 - ▶ 對於讀數1和讀數2,請在所需的循環數上多加一個循環。
 - ▶ 僅執行 PhiX 時,請於兩個索引欄位中輸入 0。

讀數	循環數
讀數 1	26 - 151
索引 1	最多 10
索引 2	最多 10
讀數 2	26 - 151

讀數 2 通常和讀數 1 的值相同,包括額外循環。索引 1 會將 i7 索引轉接定序,而索引 2 會將 i5 索引轉接 定序。

- 4 若要指定目前執行的輸出資料夾或上傳樣本表,請選擇 [Advanced (進階)]:
 - ▶ 在 [Output Folder (輸出資料夾)] 欄位中, 輸入 輸出資料夾位置的路徑或選擇 [Browse (瀏 覽)], 然後瀏覽至該位置。
 - ▶ 在 [Sample Sheet (樣本表)] 欄位中, 輸入樣本表位置的路徑或選擇 [Browse (瀏覽)], 然後瀏覽 至該位置。
- 5 選擇 [Start Run (開始執行)], 以啟動執行前檢查。

檢視執行前檢查

執行前檢查儀器檢查和流量檢查。流量檢查會刺穿匣封口並將試劑通過流通池,因此開始進行流量檢查後,耗 材便無法重複使用。

等候約 15 分鐘,待執行前檢查作業完成。
 順利完成後會自動開始執行。除非系統靜音,否則提醒音響起表示執行已開始。

警告

執行前檢查或執行期間打開門會造成執行失敗。

- 2 如果儀器檢查期間發生錯誤,請選擇 [Retry (**重**試)] 重新執行檢查。 在流量檢查前進行儀器檢查。檢查期間,檢查列會跳動。
- 3 如果錯誤再次發生,請參閱第 40 頁 錯誤訊息解決方案來進行疑難排解。

監視執行進度

1 在循環 26 次後, 監控顯示在 [Sequencing (定序)] 畫面中的執行進度和計量。

計量	說明
%Q30 讀數 1	Q-評分 ≥ 30 的讀數 1 鹼基判定百分比。
%Q30 讀數 2	Q-評分 ≥ 30 的讀數 2 鹼基判定百分比。
%叢集 PF	通過品質濾網的叢集百分比。
%佔用率	包含叢集的流通池各井百分比。
預計的總產量	執行的鹼基判定預期數量。

2 若要監控檔案複製和其他執行流程,請選擇控制軟體功能表,然後選擇 [Process Management (流程管理)]。

卸除耗材

- 1 定序完成後,選擇 [Eject Cartridge (退出試劑匣)]。 軟體會從儀器中退出使用過的試劑匣。
- 2 從托盤將匣取出。
- 3 請取出匣中的流通池,

警告

- 4 根據所在地區的適用標準棄置內含電子組件的流通池。
- 5 根據所在地區的適用標準棄置內含用過的試劑的匣。 流體會隨著試劑匣棄置,因此執行後清洗並非必要程序。



這組試劑可能含有有害的化學物質。吸入、誤食、皮膚接觸與眼睛接觸都可能造成人員傷害。為避免 曝露於危險之中,請穿戴適當的保護設備,包括護眼罩、手套和實驗衣。將使用過的試劑視為化學廢 棄物處理,並按照適用的地區、國家和當地法律與規定棄置。如需其他環境、健康和安全資訊,請參 閱 SDS,網址是: support.illumina.com/sds.html。

6 選擇 [Close Door (關門)] 可重新裝載托盤並返回 [Home (首頁)] 畫面。 軟體會自動重新裝載托盤,且感應器會確認試劑匣已取出。
章節4維護

清除硬碟空間	30
軟體更新	30
更換空氣濾網	31
挪動儀器	33

清除硬碟空間

每次定序執行需要約2GB的硬碟空間。硬碟空間不足時,請利用下列步驟刪除已完成的執行並清除空間。

- 1 從控制軟體功能表中,選擇 [Process Management (流程管理)]。 隨即顯示 [Process Management (流程管理)] 畫面,以及儲存在硬碟中的執行清單。
- 2 針對要刪除的執行選擇 [Delete (刪除)]。 刪除執行時會刪除本機執行資料夾。輸出資料夾將會保留,該資料夾是執行資料夾的副本。
- 3 在對話方塊中選擇 [Yes (是)], 確認刪除執行。
- 4 針對每個要刪除的執行,重複步驟 2 和 3。
- 5 結束後, 關閉 [Process Management (流程管理)], 以返回 [Sequence (定序)] 畫面。

軟體更新

更新軟體可確保系統取得最新功能和修正。系統套件搭載軟體更新,包含以下軟體:

- ▶ iSeq 控制軟體
- ▶ iSeq 100 系統配方
- ▶ 通用複製服務 (Universal Copy Service)
- ▶ 即時分析
- ▶ Local Run Manager (僅限框架)

雖然 Local Run Manager 包含於系統套件中,但分析模組不包含在內。請視需要使用 sbsadmin 帳戶 另外進行安裝。從 Local Run Manager 支援頁面進入分析模組軟體。

系統可設定為自動或手動下載軟體更新:

- ▶ **自動更新** 系統會從 BaseSpace Sequence Hub 自動下載更新,以便您進行安裝。此選項必須有網際網路連線,但不需要使用 BaseSpace Sequence Hub 帳戶。
- ▶ 手動更新 從網站手動下載更新,並儲存在本機或可攜式裝置,您可以從儲存的位置進行安裝。該選項不需要網際網路連線。

安裝自動軟體更新

- 1 切換到 sbsadmin 作業系統帳戶。
- 2 從控制軟體功能表,選擇 [Software Update (軟體更新)],開啟軟體更新對話方塊。 如果系統設定為自動更新軟體,則推出更新時會在控制軟體功能表下方顯示警示。
- 3 若要檢查更新,請從下列選項選擇:
 - ▶ [Check for Update (檢查更新)] 檢查是否推出軟體更新。
 - ▶ [Autocheck for Updates (自動檢查更新)] 檢查是否推出軟體更新,並將系統設定為自動檢查往後的更新。

¹ 註

連接至網際網路但未設定為自動更新時,系統會出現這些選項。

- 4 選擇 [Update (更新)] 可下載新版本的軟體。 當下載完成後控制軟體會關閉,並顯示安裝精靈。
- 5 在安裝精靈中,選擇 [Install (安裝)]。



在安裝完成前取消更新將停止目前的更新作業。取消前進行的所有變更都將恢復為先前版本或未安裝的狀態。

- 6 安裝完成後,選擇 [Close (關閉)]。
- 7 若出現登錄編輯程式,請選擇 [Yes] (是)。 控制軟體會自動重新啟動。重新啟動後會自動進行韌體更新。

安裝手動軟體更新

註

- 1 切換到 sbsadmin 作業系統帳戶。
- 2 軟體推出更新時,可從 iSeq 100 定序系統支援頁面下載系統套件安裝程式 (*.exe)。將安裝程式儲存至本機磁碟或隨身碟。
- 3 如果將安裝程式儲存至隨身碟,請將隨身碟插入儀器背面的 USB 連接埠。視需要移動儀器,確保能連接 至儀器背面。
- 4 在控制軟體中,從控制軟體功能表選擇 [Software Update (軟體更新)]。
- 5 在 [Software Update (軟體更新)]對話方塊中,展開 [Install from local or portable drive (由本機磁碟 或隨身碟安裝)]。
- 6 選擇 [Browse (瀏覽)] 以瀏覽至安裝程式。
- 7 選取 [Update (更新)] 以開始安裝。 控制軟體會關閉,並顯示安裝精靈。
- 8 在安裝精靈中,選擇 [Install (安裝)]。



註

在安裝完成前取消更新將停止目前的更新作業。取消前進行的所有變更都將恢復為先前版本或未安裝 的狀態。

- 9 安裝完成後,選擇 [Close (關閉)]。
- 10 若出現登錄編輯程式,請選擇 [Yes] (是)。 控制軟體會自動重新啟動。重新啟動後會自動進行韌體更新。

更換空氣濾網

空氣濾網為單次使用的發泡片,覆蓋在儀器背面的兩部風扇上。空氣濾網可確保適當散熱,並避免碎片進入系統。本儀器隨附一個預先安裝和一個備用的空氣濾網。保固包含額外的備用零件,也可以向 Illumina 購買。 自首次設定開始,軟體每六個月會提示您更換空氣濾網。請依照下列說明更換過期的空氣濾網。

- 1 將儀器放在適當位置以便輕鬆接觸背面。
- 2 如下圖所示,在儀器背面按上方面板的右側即可脫離。



3 從儀器上取下面板。



4 從面板中央取下發泡式空氣濾網並丟棄。



5 將新的空氣濾網換到面板上,並按下固定。

6 將兩個面板掛鉤插入儀器上的孔洞,並將面板按入定位。



- 7 將儀器放回原有位置。
- 8 選擇 [Filter Changed (濾網已更換)] 以繼續。

挪動儀器

請利用下列說明以安全方式挪動儀器。請確認新位置符合 iSeq 100 定序系統現場準備指南 (文件 # 1000000035337) 中說明的要求。

如果您準備退還儀器,請略過本節並參閱第 47 頁 進階更換。

- 1 從功能表選擇 [Shut Down System (關閉系統)]。
- 2 如果系統沒有關機,請按住儀器左側的電源按鈕,直到燈號熄滅為止。
- 3 電源按鈕閃爍時,按下位於後側面板的電源開闢,並切換至關閉電源(O)側。 關閉電源後電源按鈕可能會繼續閃爍。



- 4 拔除牆壁插座的電源線,再從後側面板 AC 電源孔拔出電源線。
- 5 (若適用) 拔除牆壁插座的乙太網路線,再拔除後側面板乙太網路連接埠端。
- 6 調低監視器。
- 7 將儀器挪動至需要的位置。

儀器重量為 15.9 公斤 (35 磅), 需要兩個人一起搬運。

- 8 調高監視器。
- 9 如果儀器需要連線至網路,請將乙太網路纜線連接至乙太網路連接埠。
- 10 將電源線連接至後側面板的 AC 電源孔, 然後插入牆面插座。
- 11 按下電源開關, 並切換至開啟電源 (I) 側。
- 12 電源按鈕閃爍時,按下電源按鈕。
 - 圖 8 電源按鈕位置



13 作業系統載入後,登入 Windows。 控制軟體會隨即啟動並將系統初始化。初始化完成後,便會顯示 [Home (首頁)] 畫面。

附錄 A 定序輸出

即時分析概覽

即時分析軟體會在儀器控制電腦上執行。在定序執行期間,此軟體會從影像中萃取強度,以執行鹼基判定,然 後為該鹼基判定給予品質評分。

iSeq 100 定序系統使用 RTA2 進行即時分析。RTA2 與控制軟體之間,透過網路 HTTP 介面和共用記憶體檔案 進行通訊。如果 RTA2 終止,處理將不會重新啟動且不會儲存執行資料。



系統不會計算信號分離效能,因此 Sequencing Analysis Viewer 中的 [Index (索引)] 標籤沒有任何數 值。

輸入檔案

RTA2 需要下列輸入檔案進行處理:

- ▶ 本機系統記憶體內的基因模版影像。
- ▶ XML格式的即時分析組態檔。
- ▶ RunInfo.xml, 開始執行時控制軟體可自動生成此檔案。

RTA2 收到控制軟體的指令,包括 RunInfo.xml 位置的相關資訊,以及是否指定輸出資料夾。RTA2 可透過 RunInfo.xml 讀取執行名稱、循環數、讀數是否已編製索引,以及流通池的基因模版數量。

輸出檔案

記憶體中的影像會傳遞至 RTA2 作為基因模版;基因模版是流通池上的小型成像區域,由一個攝影機視圖所定 義。iSeq 100 i1 流通池有 16 個基因模版。

RTA2 會從這些影像產生一組依品質評分的鹼基判定檔案和濾網檔案作為主要輸出。其他檔案會支援產生主要輸出。

檔案類型	檔案描述、位置和名稱
鹼基判定檔案	分析的每個基因模版皆含在一個鹼基判定檔案中,每個循環共計為一個檔案。匯集的檔案包含鹼 基判定及每個叢集的相關品質評分。 Data\Intensities\BaseCalls\L001 [Cycle].bcl.bgzf,[Cycle]以四個數字表示循環數。鹼基判定檔案使用的是區塊 gzip 壓縮方式 進行壓縮。
鹼基判定索引檔案	鹼基判定索引檔案會保留原始基因模版資訊。對於基因模版而言,索引檔案包含基因模版編號和 叢集數。 Data \Intensities \BaseCalls \L001 [Cycle].bcl.bgzf.bci
叢集位置檔案	一個叢集位置(s.locs)檔案包含流通池上每個叢集的 X 和 Y 座標。 Data \Intensities s.locs
濾網檔案	濾網檔案會具體說明叢集是否通過濾網。每個基因模版會產生一個濾網檔案。濾網檔案是利用 25 個週期的數據於週期 26 時所生成。 Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane].filter

檔案類型	檔案描述、位置和名稱
InterOp 檔案	在整個執行過程中更新的執行品質即時計量。這些二進位檔案包含基因模版、循環及讀數等級計 量,而且在 Sequencing Analysis Viewer 中檢視計量時需要這些檔案。 InterOp 資料夾
RTA 組態檔	列出執行的參數。在執行開始時建立的檔案會結合輸入組態檔的値和 RTA2 定義的値。 [根資料夾],RTAConfiguration.xml
執行資訊檔案*	列出執行名稱、每個讀數的循環數、讀數是否為索引讀數,以及長列及基因模版數。在執行開始 時建立。 [根資料夾], RunInfo.xml
縮圖檔案	流通池基因模版的縮圖影像。 Images\L001\C[X.1] – 檔案會儲存在每個通道的一個資料夾和每個循環的一個子資料夾。 s_[lane]_[tile].jpg – 縮圖影像包含基因模版編號。

*由控制軟體建立。RTA2 會建立本表所列的所有其他檔案。

Local Run Manager 和 BaseSpace Sequence Hub 會自動將鹼基判定檔案轉換成 FASTQ 檔案。在手動模式中 定序時,請使用最新版本的 bcl2fastq2 Conversion Software 來轉換 FASTQ 檔案。請從 Illumina 網站上的 bcl2fastq Conversion Software 支援頁面下載軟體。

輸出資料夾名稱和路徑

控制軟體會針對每個執行自動生成輸出資料夾和執行資料夾。從輸出資料夾存取執行資料,該資料夾是執行資 料夾的副本。執行資料夾供系統使用。

使用者可以定義輸出資料夾的路徑,但預設為 D:\。控制軟體可使用下列格式命名輸出資料夾。

格式	範例
<年月日>_<儀器 ID>_<執行編號>_<流通池 ID>	20180331_FFSP247_4_BNS417-05-25-12

每次系統進行一次執行,執行編號就會加一。序號可辨識儀器和流通池。

輸出資料夾結構

- 🧰 Recipe 特定執行的配方檔。
- □ Logs 說明儀器分析、操作步驟及其他事件的記錄檔。
- ☐ Config 執行的配置設定。
- RunParameters.xml
- E RunInfo.xml
- CopyComplete.txt
- RunCompletionStatus.txt
- RTAComplete.txt
- RTAConfiguration.xml
- 📄 Data
 - 📄 Intensities
 - E BaseCalls
 - 🚞 L001
 - 🗉 s.locs
- 🚞 InterOp
- 📄 Images
- I SampleSheet.csv − 様本表或様本清單。
- 🧰 RTALogs 說明 RTA2 事件的記錄檔。

處理時發生錯誤

RTA2 將建立紀錄檔案並寫入 RTALogs 資料夾。錯誤將記錄於錯誤檔案中(TSV 檔案格式)。 下列記錄和錯誤檔案將在處理結束時傳輸至最後匯出目的地:

- ▶ *GlobalLog*.tsv 總結了重要的執行事件。
- ▶ *Error*.tsv 列出了執行期間發生的錯誤。
- ▶ *WarningLog*.tsv 列出了執行期間出現的警告。

即時分析工作流程

強度萃取	判別每個叢集的強度值。
+	
定相校正	校正定相延遲和定相超前的影響。
+	
鹼基判定	確定每個叢集的鹼基判定。
+	
品質評分	為每個鹼基判定指派品質評分。

強度萃取

強度萃取會計算指定影像中每個奈米井的強度值。

定相校正

定序反應期間,一個叢集中的各股 DNA 在每個週期會延長一個鹼基。當有一股在當前併入週期中超出相位, 便會發生定相延遲和定相超前。

▶ 當落後一個鹼基時,則發生定相延遲。

- ▶ 當超前一個鹼基時,則發生定相超前。
 - 圖 9 相位延遲和定相超前



- A 一個鹼基定相延遲的讀數
- B 一個鹼基定相超前的讀數

RTA2 校正定相延遲和定相超前的影響,可最大化執行過程中每個週期的資料品質。

鹼基判定

鹼基判定可判斷特定週期中指定基因模版的每個叢集的鹼基 (A、C、G 或 T)。iSeq 100 系統使用單染定序, 需要一種染料和兩幅影像, 為四個鹼基編碼資料。

從一幅影像萃取的強度與第二幅影像相比,可獲得四種不同群體,每種對應一個核苷酸。鹼基判定決定了每個 叢集所屬的群體。



圖 10 叢集強度可視化

表 1 單染定序中的鹼基判定

鹼 基	第一幅影像中的染料	第二幅影像中的染料	影像相較後的結論
Т	開	開	兩幅影像中均顯示強度的叢集為 ⊺ 鹼基。
А	開	阁	只有第一幅影像顯示強度的叢集為 A 鹼基。
С	關	開	只有第二幅影像顯示強度的叢集為 C 鹼基。
G	翻	翻	兩幅影像中均未顯示強度的叢集為 G 鹼基。

通過濾網的叢集

執行期間, RTA2 會篩選原始資料, 移除不符合資料品質標準的讀數。也會移除重複和品質不佳的叢集。

針對單染定序, RTA2 使用以群體為基礎的系統, 判定鹼基的純度 (強度純度測量)。前 25 次週期中, 若最多 僅有一個鹼基判定的純度低於固定標準, 叢集便會通過濾網 (PF)。

系統會在第 26 個週期執行針對通過濾網的叢集的基因模版子集執行 PhiX 校準。未通過濾網的叢集則不會進行 鹼基判定及校準。

索引讀數

鹼基判定索引讀數的流程與鹼基判定定序讀數不同。前兩個索引讀數循環無法以兩個 G 鹼基開始,否則無法產 生強度。為了確保解編效能,強度必須出現在前兩個循環中的任何一個。

確認基因庫集區中 **至少**有一個索引轉接序列不會以兩個 G 鹼基開始。選擇平衡的索引轉接序列,以便讓信號出 現在每個循環的至少一個影像中 (最好兩個影像都有)。Illumina TruSeq UD 索引適用的 IDT 的盤配置和序 列,可維持適當平衡。

索引和集區的更多資訊,請參閱「索引轉接集區指南 (文件 #100000041074)」。

品質評分

品質評分(或者 Q-評分) 是不正確鹼基判定機率的預測值。Q-評分較高則代表鹼基判定品質較高,正確的可 能性更大。

Q-評分是溝通小錯誤機率的簡單方式。Q(X)表示品質評分,其中X為分數。以下表格顯示品質評分與出錯機率的關係。

Q-評分 Q(X)	出錯機率
Q40	0.0001 (1/10,000)
Q30	0.001 (1/1,000)
Q20	0.01 (1/100)
Q10	0.1 (1/10)

🏰 註

品質評分是依據 Phred 演算法的修訂版。

品質評分計算每個鹼基判定的一組預測因子,然後使用預測值在品質表查看 Q-評分。品質表用於為執行提供 最佳的準確品質預測,由定序平台特別設定和化學版本產生。

在決定 Q-評分後,系統會將結果記錄在鹼基判定檔案中。

附錄 B 疑難排解

錯誤訊息解決方案	40
取消已開始的執行	40
關閉儀器再重新啟動電源	41
執行系統檢查	42
減少漏液	44
還原至原廠設定	46

錯誤訊息解決方案

此附錄包含各種疑難排解程序的詳細說明。下列流程圖針對初始化、執行設定、執行前檢查或定序期間所顯示 且重試後仍無法解決的錯誤訊息,顯示疑難排解的工作流程。

許多錯誤在關閉後重新啟動即可解決: 關閉儀器後重新啟動。 其他則需要透過系統檢查來診斷和解決。



流程管理狀態

解決 [Process Management (流程管理)] 畫面上的狀態問題:

- ▶ 如果正在執行,請關閉 [Process Management (流程管理)] 畫面、等候約五分鐘, 然後重新開啟。
- ▶ 如果不是正在執行,請關閉儀器後重新啟動,然後重新開啟 [Process Management (流程管理)] 畫 面。請參閱第 41 頁 關閉儀器再重新啟動電源。

取消已開始的執行

執行開始後,您可以將其取消以結束執行、將匣退出並返回 [Sequence (定序)] 畫面。

警告

取消執行將會*無法再更改*。執行前檢查的儀器檢查部分完成後,軟體無法恢復執行,且耗材無法再重複使 用。

- 1 選擇 [Stop Run (停止執行)], 然後選擇 [Yes, cancel (是,取消)]。 隨即顯示 [Sequencing Canceled (定序取消)] 畫面,以及標示停止執行日期和時間的時間戳記。
- 2 選擇 [Eject Cartridge (退出匣)] 可開啟匣門並退出托盤。
- 3 從托盤將匣取出。
- 4 依取消的時機而定,存放或棄置匣:

情況	指示
在儀器檢查前或期間取消執行,並且想要重複使用耗 材。	請將流通池和基因庫留在匣裡,不得在室溫放超過 1 小 時。
其他情況。	請取出匣中的流通池,依據地區適用標準棄置這兩個組 件。 ・流通池內含電子零組件。 ・匣包含使用過的試劑和基因庫。

5 選擇 [Close Door (關門)] 可重新裝載托盤並返回 [Sequencing (定序)] 畫面。 感應器會確認匣已移除。

關閉儀器再重新啟動電源

關閉儀器再重新啟動電源,可安全地關閉系統,然後重新啟動,以恢復中斷的連線、遵守規範或解決初始化失 敗的問題。本軟體會說明何時應關閉儀器再重新啟動,以解決錯誤或警告。

- 1 從功能表選擇 [Shut Down System (關閉系統)]。
- 2 如果系統沒有關機,請按住儀器左側的電源按鈕,直到燈號熄滅為止。
- 3 電源按鈕閃爍時,按下位於後側面板的電源開闢,並切換至關閉電源(O)側。 關閉電源後電源按鈕可能會繼續閃爍。

圖 12 切換開關位置



- 4 請等候 30 秒。
- 5 按下電源開闢, 並切換至開啟電源(I) 側。

- 6 電源按鈕閃爍時,按下電源按鈕。
 - 圖 13 電源按鈕位置



7 作業系統載入後,登入 Windows。 控制軟體會隨即啟動並將系統初始化。初始化完成後,便會顯示 [Home (首頁)] 畫面。

執行系統檢查

系統檢查大約需要 45 分鐘, 會使用可重複使用的測試流通池和可重複使用的測試匣,進行執行前檢查錯誤和 其他問題的疑難排解作業。檢查會測試四個子系統,確認組件是否經過正確校準並且能正常運作。 正常操作和維護不需要進行系統檢查。

- 1 從室溫儲存庫中取出可重複使用的測試流通池和可重複使用的測試匣。
- 2 從控制軟體功能表中,選擇 [System Check (系統檢查)]。 即顯示 [System Check (系統檢查)] 對話方塊以及選取的機械、熱、光學及感應器測試。
- 3 選擇 [Unload (卸除)] 可開啟匣室門並退出托盤。
- 4 從托盤取出用過的匣 (若有)。
- 5 檢查可重複使用的流通池玻璃表面是否有碎屑。如果有碎屑,請依照下列方式清潔。
 - a 請使用酒精擦拭巾清潔玻璃表面。
 - b 使用低棉絮實驗室拭紙擦乾。
 - c 確保流通池沒有棉絮或纖維。

在一般情況下,可重複使用的測試流通池不需要清潔。

6 標籤朝上,從握點握住可重複使用的測試流通池。

7 將可重複使用的測試流通池插入可重複使用的測試匣前方插槽。

聽到卡住的聲音表示流通池已卡入定位。如果正確裝入,夾片會從匣中突出,也可以從工作窗口看到玻 璃。



- a 載入可重複使用的測試流通池
- b 已載入可重複使用的測試流通池
- 8 將可重複使用的測試匣放在托盤上,讓工作窗口朝上,同時流通池位於儀器內。



- 9 選擇 [Load (載入)] 以載入可重複使用的測試匣並關閉門。
- 10 選擇 [Start (開始)] 可開始進行系統檢查。 在系統檢查期間,軟體會退出匣並將匣收回一次,並在螢幕上顯示剩餘的使用次數。兩種可重複使用的測 試組件皆可可使用高達 130 次。
- 11 系統檢查完成後,請檢視每項測試是否通過或失敗。

結果	指示	行動
四項測試全部通過	儀器可正常作用,而且問題可能和 耗材或基因庫有關。	設定新的執行。如果儲存上次執行使用的耗材, 請使用該耗材進行新的執行。
至少有一項測試失敗	儀器硬體可能發生問題。	聯絡 Illumina 技術支援。

- 12 選擇 [Unload (卸除)] 以退出測試匣。
- 13 從托盤將可重複使用的測試匣取出。
- 14 取出匣中可重複使用的測試流通池。
- 15 將可重複使用的測試組件放回原始包裝,於室溫下儲存。
- 16 關閉 [System Check (系統檢查)] 對話方塊。

減少漏液

如果執行前檢查或定序期間偵測到流體連接不良、匣發生問題或漏液,則軟體會結束執行並通知您。評估漏液 狀況並清潔儀器後,系統檢查作業會確認是否可以繼續正常操作。

儀器底部的滴盤會承接從匣洩漏的液體。但是洩漏的液體可能會流到系統其他區域。在正常情況下,滴盤是乾 的。

評估漏液

- 1 戴上一雙無粉末的新手套。
 - 警告 🔰

這組試劑可能含有有害的化學物質。吸入、誤食、皮膚接觸與眼睛接觸都可能造成人員傷害。為避免 曝露於危險之中,請穿戴適當的保護設備,包括護眼罩、手套和實驗衣。將使用過的試劑視為化學廢 棄物處理,並按照適用的地區、國家和當地法律與規定棄置。如需其他環境、健康和安全資訊,請參 閱 SDS,網址是: support.illumina.com/sds.html。

- 2 依照螢幕上的指示將匣退出。
- 3 檢查能否在匣內看到液體。 流通池的玻璃表面上可以有少量液體(< 500 微升)。</p>
- 4 如果看不到液體(或液體量在可接受範圍內),請繼續*清潔儀器*。 清潔後,檢查系統確認可正常運作。
- 5 如果在流通池、匣或儀器中看得到大量液體,請依照下列方式關機並拔掉插頭,然後聯絡 Illumina 技術支援。
 - a 從功能表選擇 [Shut Down System (關閉系統)]。
 - b 如果關機命令無回應,請按住儀器左側的電源按鈕,直到燈號熄滅為止。
 - c 電源按鈕閃爍時,按下位於儀器背面的電源開關,並切換至關閉電源(O)側。
 - d 請等候 30 秒。
 - e 從牆面插座拔除電源線,再從後側面板 AC 電源孔拔出電源線。
 - f (若適用) 拔除牆壁插座的乙太網路線,再從後側面板乙太網路連接埠端拔出乙太網路線。

清潔儀器

- 1 為了安全起見,請先關閉儀器並拔除插頭:
 - a 從功能表選擇 [Shut Down System (關閉系統)]。
 - b 如果關機命令無回應,請按住儀器左側的電源按鈕,直到燈號熄滅為止。
 - c 電源按鈕閃爍時,按下位於儀器背面的電源開闢,並切換至闢閉電源(O)側。
 - d 請等候 30 秒。
 - e 從牆面插座拔除電源線,再從後側面板 AC 電源孔拔出電源線。
 - f (若適用) 拔除牆壁插座的乙太網路線,再從後側面板乙太網路連接埠端拔出乙太網路線。

2 找到儀器正面匣室下方的滴盤門, 然後將門放下。



3 打開滴盤並取出滴盤襯墊。



- 4 使用紙巾從滴盤底部擦除任何殘留的液體。
- 5 依據地區標準棄置襯墊和其他耗材。 如需更多資訊,請參閱 support.illumina.com/sds.html 上的安全資料表 (SDS)。
- 6 在滴盤上放置新的襯墊。
- 7 關上滴盤, 然後關上滴盤門。
- 8 用紙巾吸乾儀器上或周圍看得到的液體。
- 9 依照下列方式開啟並重新連接儀器。
 - a 如果適用,請將乙太網路線接到乙太網路連接埠。
 - b 將電源線連接至後側面板的 AC 電源孔, 然後插入牆面插座。
 - c 按下位於後側面板的電源開闢,切換至開啟電源(I) 側。
 - d 電源按鈕閃爍時,按下電源按鈕。
 - e 作業系統載入後,登入 Windows。

控制軟體會隨即啟動並將系統初始化。初始化完成後,便會顯示 [Home (首頁)] 畫面。

執行系統檢查,確認系統正常運作。
 通過系統檢查表示儀器可恢復正常運作。如需相關說明,請參閱第 42 頁 執行系統檢查。

還原至原廠設定

將系統還原至原廠預設值以將軟體降級、從不需要的配置中恢復,或是清除使用者資料後,再將儀器退還給 Illumina。還原系統時會解除安裝控制軟體並清除 C 槽。

- 1 如果 Local Run Manager 的參考基因組儲存庫位於 C 槽:
 - a 將儲存庫移至 D:\Illumina\Genomes 或不在 C 槽上的其他本機或網路資料夾。
 - b 在 Local Run Manager 中,將儲存庫路徑重設為 D:\Illumina\Genomes 或不在 C 槽上的其他本機或 網路資料夾。如需相關說明,請參閱 Local Run Manager 軟體指南 (文件 #100000002702)。
- 2 重新啟動 Windows。
- 3 系統提示您選擇作業系統時,請選擇 [Restore to Factory Settings (還原至原廠設定)]。 使用 iSeq 控制軟體自動繼續之前,會短暫顯示作業系統選項。
- 4 等候約 30 分鐘,待還原作業完成。 還原作業期間會多次重新開機。完成後,系統會以原廠設定重新開機,而非控制軟體。
- 5 安裝控制軟體:
 - a 從 iSeq 100 定序系統支援頁面下載軟體安裝程式。將安裝程式儲存至網路位置或可攜式 USB 隨身 碟。
 - b 將安裝程式複製到 C:\Illumina。
 - c 開啟 iSeqSuiteInstaller.exe, 然後依照提示執行安裝。
 - d 更新完成後,選擇 [Finish (完成)]。
 - e 關閉儀器再重新啟動電源。如需相關說明,請參閱第 41 頁 關閉儀器再重新啟動電源。
- 6 依照畫面提示執行手冊設定,包括利用可重複使用的測試匣和測試流通池檢查系統。
- 7 安裝 Local Run Manager 分析模组:
 - a 切換到 sbsadmin 作業系統帳戶。
 - b 從 Local Run Manager 支援頁面下載軟體安裝程式。將安裝程式儲存至網路位置或可攜式 USB 隨身 碟。
 - c 將安裝程式複製到 C:\Illumina。
 - d 開啟安裝程式 (*.exe), 然後依照提示執行安裝。
 - e 更新完成後,選擇 [Finish (完成)]。

附錄 C 進階更換

簡介	47
接收更換的系統	.47
準備退還的原始系統	47
退還原始系統	50

簡介

iSeq 100 系統除了空氣濾網和滴盤襯墊外,沒有其他可維修的零件,因此 Illumina 採用進階更換來解決無法遠端解決的問題。

進階更換流程使用整新後的系統更換受損或有瑕疵的系統。為了盡可能減少故障停機的時間,您將原有的系統 退還之前會收到更換的系統。



適用地區

大多數地區皆有提供進階更換,而未提供此服務的地區可以繼續仰賴現場維修工程師。關於所在地區適用的支援型號,請詢問 Illumina 技術支援。

接收更換的系統

- 1 在系統檢查和其他疑難排解作業失敗後,請聯絡 Illumina 技術支援部門。
 - 可以的話,請利用其他可重複使用的測試匣和測試流通池,再次進行系統檢查。
 - ▶ 請將系統檢查結果提供給技術支援人員。

如果技術支援人員無法遠端解決問題,則會開始進行退還作業並提交更換系統的訂單。

- 2 收到更換的系統時:
 - ▶ 請根據 iSeq 100 定序系統設定佈告 (文件 # 1000000035963) 拆封並安裝。
 - ▶ **請妥善保存所有包裝**,退還時可用於包裝原有系統和可重複使用的測試組件。
 - ▶ 保留退貨單據,包括所有貨件的 UPS 退貨標籤,以及國際貨件的商業發票。

準備退還的原始系統

在收到更換的系統後 30 天內,將原始系統、可重複使用的測試匣以及可重複使用的測試流通池退還給 Illumina。

清除資料並關機

1 如果系統已開機,請按照以下指示儲存並清除資料。

a 在 [File Explorer (檔案瀏覽器)] 中,將想要儲存的檔案和資料夾複製到 USB 隨身碟。

b 刪除不想要與 Illumina 共用的任何檔案和資料夾。

使用者可以定義定序資料的位置,而預設位置為 D 槽。

- 2 請依照下列方式關機。
 - a 從功能表選擇 [Shut Down System (關閉系統)]。
 - b 如果關機命令無回應,請按住儀器左側的電源按鈕,直到燈號熄滅為止。
 - c 電源按鈕閃爍時,按下位於儀器背面的電源開闢,並切換至闢閉電源(O)側。

拔除電源線和纜線

- 1 如果試劑匣在儀器內,請重新啟動系統,然後依照下列方式取出試劑匣。
 - a 按下位於後側面板的電源開關,切換至開啟電源(I) 側。
 - b 電源按鈕閃爍時,按下電源按鈕。
 - c 作業系統載入後,登入 Windows。
 - d 從控制軟體功能表中,選擇 [System Check (系統檢查)]。
 - e 選擇 [Unload (卸除)] 以退出試劑匣, 然後從托盤中取出試劑匣。
 - f 如果退出失敗,請聯絡 Illumina 技術支援,以取得進一步指示。
 - g 選擇 [Load (裝載)] 以收回空的托盤並關閉匣門。
 - h 關閉 [System Check (系統檢查)] 對話方塊, 然後關閉系統。

為了讓試劑匣處於可卸除的位置,必須進行系統的關機及重新啟動操作。

2 從牆面插座拔除電源線,再從後側面板 AC 電源孔拔出電源線。



- 3 若適用,請按照以下指示執行。
 - ▶ 從牆面插座拔除乙太網路線,再從後側面板乙太網路連接埠端拔出乙太網路線。
 - ▶ 從後側面 USB 連接埠拔除鍵盤與滑鼠。

去除儀器髒汙

儀器出廠前需要執行下列去汙程序,由 Illumina 確認完成。在生物安全等級 2 和 3 實驗室中操作的系統,以及 現場特定危害可能需要進行額外的去汙作業。

使用漂白劑去汙

- 1 戴上一雙無粉末的新手套。
- 2 調低儀器監視器。
- 3 從側邊輕輕拉開匣室門。



- 4 使用漂白劑擦拭巾清潔整個匣室門:
 - ▶ 門內部
 - ▶ 門外部
 - ▶ 門鉸鏈
- 5 關閉匣室門。
- 6 找到儀器正面匣室下方的滴盤門,然後將門放下。



7 打開滴盤並取出滴盤襯墊。



- 8 使用紙巾從滴盤底部擦除任何殘留的液體。
- 9 依據地區標準棄置襯墊和其他耗材。 如需更多資訊,請參閱 support.illumina.com/sds.html 上的安全資料表 (SDS)。
- 10 使用漂白劑擦拭巾清潔滴盤。
- 11 等候 15 分鐘,待漂白劑生效。

使用酒精中和

- 用水沾濕布或紙巾。
 任何等級的水都可以,包括自來水。
- 2 使用濕布或紙巾擦拭下列組件:
 - ▶ 滴盤

▶ 匣室門(內部與外部,包括鉸鏈) 水可以避免漂白劑和酒精混合。

- 3 請使用酒精擦拭巾再次清潔下列組件:▶ 滴盤
 - ▶ 匣室門(內部與外部,包括鉸鏈) 酒精可去除殘留的漂白劑,避免腐蝕。
- 4 確認滴盤門和匣室門均已關閉。
- 5 使用漂白劑擦拭巾或漂白劑溶液清潔儀器周圍的實驗室工作台。

退還原始系統

包裝儀器

1 請在實驗室清出足夠空間供儀器和包裝使用。

- 2 將小型發泡墊插入調低的監視器和儀器中間。
- 3 將灰色塑膠袋套在儀器上。



- 4 放下白色箱子的前蓋。
- 5 將儀器放入白色箱子,讓儀器正面朝向您。
- 6 將方形發泡墊放在儀器上,讓發泡墊較薄的那面放在儀器正面和背面。請確認發泡墊和箱子上方齊平。



7 關上前蓋, 然後將盒子上方蓋上。

包裝可重複使用的測試組件

- 1 將 iSeq 100 可重複使用的測試匣放入較大的可重複密封袋並密封。
- 2 將 iSeq 100 可重複使用的測試流通池放入殼狀容器。
- 3 將殼狀容器放入較小的可重複密封袋並密封。

4 將這兩個可重複密封袋放入 iSeq 100 定序系統配件箱中。



5 關閉配件箱。

運送系統

1 如果已取出發泡保護底座,請將其放入棕色裝運箱的底部。



2 握住把手抬起白色箱子(建議兩人一同搬運),將白色箱子放入棕色箱子裡。方向不限。



白色箱子必須放入棕色箱子內運送。白色箱子上沒有任何運送用的設計或標籤。

- 3 將發泡防護蓋放在白色箱子上方。
- 4 將配件箱放入發泡蓋的中間。
- 5 將黑色發泡墊放在配件箱的上方。
- 6 如果 Illumina 技術支援要求您退還電源線,請一併將其放在棕色裝運箱中。
- 7 蓋上棕色箱子並使用運送膠帶封好。

- 8 將退貨標籤放置在原始託運標籤上,或先撕掉原始託運標籤。

- 9 【國際貨運】將商業發票黏貼在運送包裝箱。
- 10 透過 UPS 將儀器運回 Illumina。
 - ▶ 如果實驗室有安排 UPS 每日遞送服務,請將貼好標籤的運送包裝箱交給貨運司機。
 - ▶ 如果實驗室沒有 UPS 每日遞送服務, 請通知 Illumina 客服人員, 為您安排退貨運送事宜。

索引

%

%PF 19, 26, 29, 39 %佔用率 19, 26, 29 %叢集 PF 26, 29

A

AC 電源 連接孔 3 插座 33, 44, 48 AmpliSeq Library PLUS for Illumina 19

В

BaseSpace Sequence Hub 1 快速設定 11 樣本表要求 14 檔案上傳 6 BCL 檔案 6, 35 bcl2fastq2 Conversion Software 35 BSL-2 49 BSL-3 49

C

C 槽 15, 46 Chromium 空白畫面 24 開啟 24 CMOS 感應器 8, 23, 36 Custom Protocol Selector 2

D

D 槽 6, 15, 30, 48 DesignStudio 1

Ε

EEPROM 8

F

FASTQ 檔案 27, 35

G

G 鹼基 39

I.

i5 方向 27 i5 索引轉接 28 i7 索引轉接 28 Illumina Proactive Support 11-12 Illumina TruSeq UD 索引適用的 IDT 39 InterOp 檔案 35 IP 位址 5 iSeq 100 i1 試劑 17 iSeq 100 系統測試組件 17, 42

L

Local Run Manager 5 下載 30 工作流程指南 25 文件 1, 25 快速設定 11 狀態 7 建立執行 24 遠端存取 24 模組 30 樣本表 建立 14 Local Run Manager 模式, 關於 24

N

NGS 1 Nextera DNA Flex 19 Nextera Flex for Enrichment 19

Ρ

PF 39 PhiX 11, 17 Phred 演算法 39 PPE 20 PhiX 校準 39

Q

Q-評分 26, 29, 39 Q30 26, 29

R

RFID 2, 8 RunInfo.xml 35 RSB (再懸浮緩衝液) 替代品 17 RSB 替代品 21

S

sbsadmin和sbsuser 11 SDS 45, 49 Sequencing Analysis Viewer 35

T

TSV 檔案格式 37 TruSeq DNA Nano 19 TruSeq DNA PCR-Free 19

U

Universal Copy Service 30 UPS 52 USB 連接埠 3, 31

W

WiFi, 開啟 16 Windows 帳戶 11 設定 16 登入 34, 41, 45 Windows 10 說明 16 Windows 工作列 11

Ζ

乙太網路 3, 33 乙太網路, 開啟 16 乙太網路連接埠 44, 48 乙太網路線 44, 48

子

子系統 42

Ι

工作窗口, 匣 8 工作群組 25, 27

已

已停止的流程 40

不

不完整的流程 40

中

中斷連線 44

介

介面卡選項, WiFi 16

內

內建磁碟機 15

分

```
分析
方法 5, 19
狀態 7
儀器外 19
```

切

切換開闢 3, 33, 41

手

手動軟體更新 30 手動模式 FASTQ 檔案 27, 35 關於 27

支

支援型號 47 支援頁面, 網站 30

文

文件 1, 65

水

水浴 20

主

主控位置 12

包

包裝 52 匣 20 流通池 23 退還運送 47 棄置 23

可

可維修的零件 47 可重複使用的測試匣 42, 47 可重複使用的測試流通池 42, 47 可重複使用的測試組件 4, 42

外

外接磁碟機 15

失

失去連線 41

未

未通過系統檢查 42

本

本地化設定 12

本機分析 1

用

用過的試劑 8

甲

甲醯胺 26, 29

白

白色箱子 50

目

目錄編號 17

企

企業版訂閱 12

光

光學感應器 8

再

再懸浮緩衝液 17, 21

存

存放 已解凍的匣 20 稀釋基因庫 21 試劑組 7 存放條件 7

安

安全資料表 26, 29, 44-45, 49 安全與合規 2 安裝軟體 30

成

成像 19

托

托盤 4

有

有害化學物質 9, 26, 29

自

自訂標籤 11, 14 自動更新 30

佔

佔用百分率 19, 26, 29

作

作業系統 34, 41, 45

冷

冷凍庫規格 17 冷凍解凍循環 20 冷藏庫規格 17

別

別稱 14

刪

刪除執行 6, 30

匣

匣
 包裝 20
 卡在儀器內 48
 存放 7, 40
 棄置 26, 29, 40
 載入方向 25, 27
 匣卡住 48
 匣托盤 4

序

序號 5, 36

快

快速設定設定 11

批

批次代碼 9 批號 9

技

技術協助 65

私

私人網域 12

系

系統套件安裝程式 30 系統設定 11, 14 系統檢查 40, 44-45 期間 42 結果 42

使

使用者帳戶 11 使用限制 4, 42 使用過的試劑 4

初

初始化 34, 41, 45 失敗 41

到

到期日 9, 31

命

命名 電腦名稱 5 儀器別稱 14 樣本表 14

奈

奈米井 38

定

定序 工作流程 1 循環 9 讀數 9 定相 38 定相和定相超前 19 定相超前 38

拆

拆封 47

放

放大 19

狀

狀態列 3

空

空白畫面, Chromium 24 空氣濾網 47 位置 31 備用零件 17

門

門 手動開啟 49 設計 4 關閉 25, 27

保

保固 17

品

品質表 39 品質評分 19 品質管制, 基因庫 21 品質標準 39

客

客戶支援 65

恢

恢復執行 40

指

指令列 16

流

流通池 存放 7 棄置 26, 29 通道 8 循環數 9 流程管理 26, 29-30 流量檢查 26, 28 流體 8

重

重量 33 重新連接 45 重新開機 46

音

音訊設定 14

風

風扇 31

首

首次設定 31, 46

原

原廠預設值 46

效

效能資料 25, 27

核

核苷酸 19, 38

純

純度測量 39

索

索引 循環 9 轉接序列 39 讀數 28 索引 2 方向 27 索引循環 19

耗

耗材 包裝 9 重複使用 26, 28 追蹤 1, 8 掃描 25, 27 棄置 26, 29 耗材室 3

託

託運標籤 52

記

記錄檔 37

起

起始濃度 21

追

追蹤耗材 1, 8

退

退還 文件 47 期限 47 標籤 52 退還系統 47

配

配方, 軟體 30 配方片段 5 配件盒 51

酒

酒精擦拭巾 17

乾

乾冰 20

停

停止執行 40

商

商業發票 52

啟

啟動自動執行 26, 28

或

國際貨運 52

執

執行 大小 14, 30 在 BaseSpace Sequence Hub 中監控 11-12 計數 5, 36 編輯參數 25 儲存在 BaseSpace Sequence Hub 中 11-12 檢查狀態 6, 26, 29 執行名稱 28 執行前檢查錯誤 42 執行說定 設定選項 11-12 畫面 24, 27 執行資料夾 15, 30, 36

基

基因庫 1, 8 存放 1 奈莫耳 21 起始濃度 21 變性 19 基因模版 35 基因庫貯池 23 基因庫準備組件 1, 19

將

將軟體降級 46

帳

帳戶類型 11

強

強度 38

控

控制軟體最大化 11

液

液體, 洩漏 44 液體, 滲漏 44

清

清洗 8 清潔流通池 42

現

現場準備 2, 15, 33, 50 現場維修工程師 47

產

產量計量 26, 29

移

移動 3, 33

組

組件 7, 17 目錄編號 17 組態設定 37 組態檔 35

設

```
設定
首次設定 11
編輯 12
設定佈告 2, 47
設定標籤 11
```

軟

軟體 安裝 30 更新設定 14-15 更新警示 30 降級 46 試劑相容性 9 軟體版本 9 軟體套件 1,5

通

通用複製服務 5-6, 15 通過系統檢查 42 通過濾網 19, 26, 29 通道, 流通池 8

備

備用零件 31

單

單一讀數 25, 28 單染定序 19, 38-39

循

循環上限 19 循環下限 19

提

提醒 30

握

握點 8, 23

最

最佳化載入濃度 19

測

測試組件 17

登

登錄編輯程式 30-31

硬

硬碟 6, 30

稀

稀釋的基因庫 19

結 結束執行 40 診 診斷 42 集 集區指南 39 雲 雲端式分析 1 訒 韌體更新 30-31 感 感應器 40 滑 滑鼠 3, 11 照 照明器 8 解 解編效能 39 試

試劑 7-8
存放 7
棄置 26, 29, 40
軟體相容性 9
試劑組 7
試驗
設計 1

資

資料分析選項 11-12 資料刪除 48

載

載入濃度 19

零

零件編號 9

電

電子介面 8, 23 電子廢棄物 26, 29, 40 電源按鈕 3, 33, 41 電源線 3, 33, 44, 48 電腦名稱 5

預

預計的總產量計量 26, 29 預設輸出資料夾 15, 25

븝

圖示 6, 9

實

實驗衣 20

對

對照基因庫 11

滴

滴盤 44 位置 45, 49 門 45, 49 襯墊 17, 47

漂

漂白 49 漂白劑擦拭巾 17

漏

漏液 44

監

監視器 3

磁

磁碟空間 6, 30

管

管理員帳戶 11

網

網域 12 網路 準則 15 預設設定 15 網路存取標籤 11, 15

腐

腐蝕, 預防 50

製

製造商 9

說

說明,技術 65 說明圖示 24, 27

遠

遠端存取 24 遠端監控 25, 27

儀

儀器 安裝 47 重量 33 儀器上步驟 19 儀器外分析 19 儀器檢查 26, 28

影

影像 14, 35, 37-38 影像分析 5

標

標準化方法 21 標籤 9

模

模式化流通池 8

樣

様本表 25, 27, 37 命名 14 範本 14, 27 様本清單 37

範

範本, 樣本表 14, 27

編

編輯執行參數 25

整

整新 47

燈

燈條 3

篩

篩選叢集 39

輸

輸出資料夾 6, 25, 28, 30, 35 進入 11 預設位置 15, 36

遵

遵守規範 41

錯

錯誤 6, 37, 41 訊息 40 機率 39

靜

靜音 14

儲

儲存條件 9

檔

檔案轉換 35

牆

牆壁插座 44, 48

縮

縮圖 14 縮圖影像, 儲存 14

聲

聲音設定 14

鍵

鍵盤 3, 11

叢

叢集 位置 35 最佳化 19 篩選 39

濾

濾網檔案 35

轉

轉接序列 14, 27 轉換檔案 35

雙

雙股基因庫 21 雙端 25, 28

額

額外循環 19

閞

關閉 44, 48 關機 33, 41, 44, 48 關閉後重新啟動 16, 26, 28, 40

警

警示 30 警告 6, 37, 41

護

護目鏡 20

襯

襯墊 17, 23, 45, 49

讀

讀數長度	19	
讀數循環	28	
讀數類型	19,	28

變

變性 19 變性基因庫 19, 21

鹼

鹼基,資料編碼 38 鹼基多樣性 39 鹼基判定 5,19,39 鹼基判定檔案 19,35

技術協助

如需技術協助, 請聯絡 Illumina 技術支援。

網站: www.illumina.com 電子郵件: techsupport@illumina.com

Illumina 客戶支援電話號碼

地區	免付費專線	區域專線
北美	+1.800.809.4566	
中國	400.066.5835	
丹麥	+45 80820183	+45 89871156
日本	0800.111.5011	
比利時	+32 80077160	+32 34002973
台灣	00806651752	
西班牙	+34 911899417	+34 800300143
法國	+33 805102193	+33 170770446
芬蘭	+358 800918363	+358 974790110
南韓	+82 80 234 5300	
英國	+44 8000126019	+44 2073057197
香港	800960230	
挪威	+47 800 16836	+47 21939693
紐西蘭	0800.451.650	
荷蘭	+31 8000222493	+31 207132960
奥地利	+43 800006249	+43 19286540
愛爾蘭	+353 1800936608	+353 016950506
新加坡	+1.800.579.2745	
瑞士	+41 565800000	+41 800200442
瑞典	+46 850619671	+46 200883979
義大利	+39 800985513	+39 236003759
德國	+49 8001014940	+49 8938035677
澳洲	+1.800.775.688	
其他國家	+44.1799.534000	

安全資料表 (SDS) — 可從 Illumina 網站 support.illumina.com/sds.html 取得。

產品文件 - 可從 support.illumina.com 下載檔案。


lllumina 5200 lllumina Way San Diego, California 92122 U.S.A. +1.800.809.ILMN (4566) +1.858.202.4566 (北美以外) techsupport@illumina.com www.illumina.com

僅供研究使用。不可用於診斷程序。

© 2020 Illumina, Inc. 保留一切權利。

illumina