

MiniSeq

시스템 가이드



이 문서와 이 문서에 기술된 내용은 Illumina, Inc. 및 그 계열사(통칭 "Illumina")의 소유이며, 이 문서에 명시된 제품의 사용과 관련하여 오직 고객의 계약상의 제품 사용만을 위해 제공되므로 그 외의 목적으로는 사용할 수 없습니다. 이 문서와 이 문서에 기술된 내용은 Illumina의 사전 서면 동의 없이 어떤 방식으로든 다른 목적으로 사용하거나 배포할 수 없으며, 전달, 공개 또는 복제할 수 없습니다. Illumina는 이 문서를 통해 특허, 상표, 저작권 또는 관습법상의 권리 혹은 타사의 유사한 권리에 따라 어떠한 라이선스도 양도하지 않습니다.

이 문서에 명시된 제품의 올바르게 안전한 사용을 보장하기 위해 이 문서의 지침은 반드시 적절한 교육을 받고 자격을 갖춘 관계자가 엄격하고 정확하게 준수해야 합니다. 제품 사용 전 이 문서의 모든 내용을 완전히 읽고 숙지해야 합니다.

이 문서에 포함된 모든 지침을 완전히 읽지 않거나 정확하게 따르지 않으면 제품 손상, 사용자나 타인의 부상, 기타 재산 피해가 발생할 수 있으며, 이 경우 제품에 적용되는 모든 보증은 무효화됩니다.

Illumina는 이 문서에 명시된 제품(해당 제품의 부품 또는 소프트웨어 포함)의 부적절한 사용에서 비롯된 문제에 대해 어떠한 책임도 지지 않습니다.

© 2021 Illumina, Inc. All rights reserved.

모든 상표는 Illumina, Inc. 또는 각 소유주의 자산입니다. 특정 상표 정보는 www.illumina.com/company/legal.html을 참조하십시오.

개정 이력

문서	날짜	개정 내용
자료 번호: 20014309 문서 번호: 1000000002695 v05	2021년 4월	Index 필드에 입력할 사이클 횟수를 8회에서 10회로 변경.
자료 번호: 20014309 문서 번호: 1000000002695 v04	2020년 9월	Rapid Kit를 포함하도록 로딩 농도 및 소프트웨어 정보 업데이트.
자료 번호: 20014309 문서 번호: 1000000002695 v03	2020년 2월	Manual 및 Local Run Manager 런 옵션의 워크플로우 업데이트. 사전 설치 참조 유전체 표 업데이트: Bacillus_cereus_ATCC_10987 삭제, HumanRNAFusion 추가. 지원이 중단된 BaseSpace Onsite에 관한 정보 삭제. 부분적인 문구 수정.
자료 번호: 20014309 문서 번호: 1000000002695 v02	2018년 3월	'분석 설정하기' 섹션에 Illumina Proactive 모니터링 서비스에 대한 정보 추가. OS 로그인 시 기본 사용자 이름과 비밀번호 입력 요구 사항 삭제. 사이트별 로그인 정보 사용 권장. 부분적인 문구 수정.
자료 번호: 20014309 문서 번호: 1000000002695 v01	2016년 9월	MiniSeq Control Software(MCS) v1.1.8에 대한 설명 업데이트(Demo Mode 포함). 자동 포스트런 워시의 소요 시간을 60분으로 변경. 분석을 위한 BaseSpace 선택 지침에 서버 설정 단계 추가. 매핑된 드라이브는 Local Run Manager 소프트웨어에서 지원되지 않음을 명시.
자료 번호: 20002370 문서 번호: 1000000002695 v00	2016년 1월	최초 발행.

목차

1장 개요.....	1
소개.....	1
추가 리소스.....	1
기기 구성 요소.....	2
시퀀싱용 소모품의 개요.....	5
사전 설치된 데이터베이스 및 유전체.....	7
2장 시작하기.....	8
기기 시작하기.....	8
시스템 맞춤 설정하기.....	9
별도 구매 소모품 및 장비.....	10
3장 시퀀싱.....	12
소개.....	12
소모품 준비하기.....	13
시퀀싱을 위해 라이브러리 준비하기.....	14
시퀀싱 런 설정하기.....	14
런 진행 상황 모니터링하기.....	22
자동 포스트런 워시.....	24
사용한 저장소 9번 포지션에서 분리하기.....	24
4장 유지 관리.....	26
소개.....	26
수동 워시 수행하기.....	26
소프트웨어 업데이트.....	29
부록 A 문제 해결.....	32
문제 해결 파일.....	32
자동 검사 오류.....	33
RTA 오류.....	34
재혼성화 워크플로우.....	35
시스템 검사.....	36
Network Configuration 설정값.....	39
맞춤형 유전체.....	40
기기 종료하기.....	40

부록 B Real-Time Analysis	42
Real-Time Analysis의 개요.....	42
입력 및 출력 데이터.....	42
Real-Time Analysis의 워크플로우.....	43
부록 C 결과 파일.....	46
시퀀싱 결과 파일.....	46
시퀀싱 결과 폴더 구조	46
분석에 필요한 파일.....	47
색인.....	48
기술 지원.....	51

1장 개요

소개	1
추가 리소스	1
기기 구성 요소	2
시퀀싱용 소모품의 개요	5
사전 설치된 데이터베이스 및 유전체	7

소개

Illumina® MiniSeq™ 시스템은 비용 대비 효율적이며 사용이 용이한 데스크톱 시스템의 편리함을 갖춘 동시에 고품질의 업계 표준 Illumina 시퀀싱 기술을 제공하는 시퀀싱 시스템입니다.

기능

- ▶ **높은 품질의 시퀀싱** — MiniSeq 시스템은 적은 볼륨의 라이브러리로부터 작은 유전체(small genome), 앰플리콘(amplicon), 표적 인리치먼트(targeted enrichment) 및 RNA 시퀀싱의 수행을 지원합니다.
- ▶ **MiniSeq 시스템 소프트웨어** — MiniSeq 시스템에는 기기 작동 제어, 이미지 처리 및 베이스 콜(base call) 생성 소프트웨어가 통합되어 있습니다. 여기에는 기기 내 데이터 분석 소프트웨어와 BaseSpace Sequence Hub와 같은 다른 분석 옵션을 지원하는 데이터 전송 도구가 포함됩니다.
 - ▶ **기기 내 데이터 분석** — Local Run Manager 소프트웨어가 각 런에 설정된 Analysis Module(분석 모듈)에 따라 런 데이터를 분석합니다. 해당 소프트웨어에는 다양한 Analysis Module이 포함되어 있습니다.
 - ▶ **BaseSpace® Sequence Hub 통합** — 시퀀싱 워크플로우가 데이터 분석, 보관, 협업이 이루어지는 Illumina의 유전체학 컴퓨팅 환경인 BaseSpace Sequence Hub에 통합되었습니다. 분석 결과 파일은 데이터 분석을 위해 BaseSpace Sequence Hub 환경으로 실시간 전송됩니다.
- ▶ **편리한 소모품 로딩** — 클램핑 장치는 플로우 셀(flow cell)이 기기에 로딩되면 올바른 위치에 고정합니다. 일회용 시약 카트리지는 런과 후속 기기 워시(wash)에 필요한 시약이 충전되어 있습니다. 플로우 셀과 시약 카트리지에는 정확한 추적을 위한 식별 장치가 포함되어 있습니다.

추가 리소스

Illumina 웹사이트의 [MiniSeq System Support 페이지](#)에서 해당 시스템을 위해 추가로 제공되는 리소스를 확인하실 수 있습니다. 추가 리소스는 소프트웨어, 교육, 호환 제품 및 아래 표의 문서로 구성됩니다. 항상 Support 페이지에서 최신 버전의 문서를 확인하시기 바랍니다.

리소스	설명
<i>Custom Protocol Selector</i>	라이브러리 준비 방법, 런 파라미터(run parameter) 및 시퀀싱 런에 사용되는 분석 방법에 알맞은 사용법 등을 정의한 문서를 생성하는 마법사.
MiniSeq 시스템 현장 준비 가이드 (문서 번호: 1000000002696)	검사실 공간 요구 사항, 전기 요구 사항 및 환경 고려 사항 제공.
MiniSeq 시스템 안전 및 규정 준수 가이드 (문서 번호: 1000000002698)	작동 안전 고려 사항, 규정 준수 성명, 기기 라벨에 관한 정보 제공.
RFID 리더 규정 준수 가이드 (문서 번호: 1000000002699)	기기의 RFID 리더, 규정 준수 인증 및 안전 고려 사항에 대한 정보 제공.
MiniSeq System Denature and Dilute Libraries Guide (문서 번호: 1000000002697)	시퀀싱 런을 위해 준비한 라이브러리의 변성(denaturation) 및 희석(dilution) 지침과 선택 사항인 PhiX Control의 준비 지침 제공.
Local Run Manager 소프트웨어 가이드 (문서 번호: 1000000002702)	Local Run Manager 소프트웨어 및 사용 가능한 분석 옵션에 관한 정보 제공.

기기 구성 요소

MiniSeq 시스템은 터치스크린 모니터, 상태 표시 바, 플로우 셀 장착부 및 시약 장착부로 구성되어 있습니다.

그림 1 기기 구성 요소

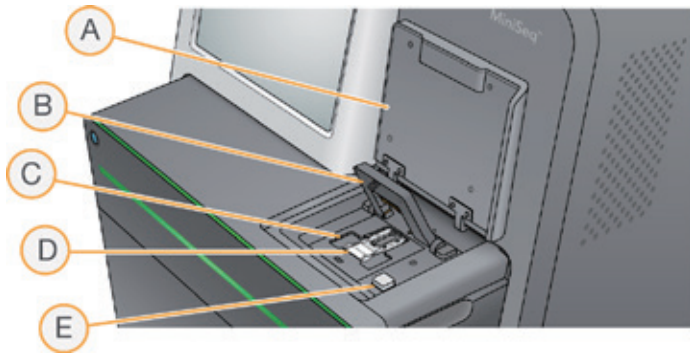


- A 터치스크린 모니터 — Control Software의 인터페이스를 통한 기기 구성 및 설정 지원.
- B 전원 버튼 — 기기에 내장된 컴퓨터와 OS를 켤 때 사용.
- C USB 포트 — 간편한 주변 장치 연결에 사용되는 연결부.
- D 플로우 셀 장착부 — 시퀀싱 런 진행 중 플로우 셀이 장착되는 위치.
- E 상태 표시 바 — 기기의 상태를 처리 중(파란색), 주의 필요(주황색), 시퀀싱 준비 완료(초록색) 또는 향후 24시간 이내 워시 필요(노란색)로 표시.
- F 시약 장착부 — 시약 카트리지가 및 폐시약 수거 용기가 장착되는 위치.

플로우 셀 장착부

플로우 셀 스테이지(flow cell stage)에 달린 플로우 셀 래치는 플로우 셀을 고정합니다. 래치가 잠기면 래치 하단의 핀이 플로우 셀 포트를 유체 연결부에 맞추어 정렬합니다.

그림 2 플로우 셀 장착부



- A 플로우 셀 장착부의 문
- B 플로우 셀 래치
- C 플로우 셀 스테이지
- D 플로우 셀
- E 플로우 셀 래치 잠금 해제 버튼

플로우 셀 스테이지 아래에 위치한 온도 스테이션(thermal station)은 클러스터 생성 및 시퀀싱에 필요한 조건에 맞게 온도 변화를 제어합니다.



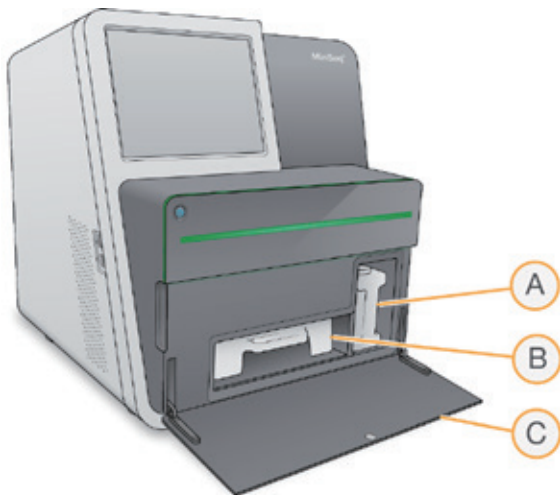
참고

플로우 셀 장착부 근처의 기기 위에 물건을 올려놓지 않습니다.

시약 장착부

MiniSeq 시스템에서 시퀀싱 런을 설정하려면 시약 장착부에 소모품을 장착하고 폐시약 수거 용기를 비워야 합니다.

그림 3 시약 장착부



- A 폐시약 수거 용기 — 운반 시 시약 유출을 막아주는 나선형 캡 포함.
- B 시약 카트리지 — 시약이 충전되어 있는 일회용 소모품.
- C 시약 장착부 문 — 시약 장착부 접근 시 사용.

시약 장착부의 문은 힌지가 문과 기기 하단 모서리를 연결하고 있어 바깥쪽으로 열립니다. 문의 측면 모서리를 잡고 가볍게 잡아당기면 문이 열립니다.



참고

시약 장착부의 문 위에 물건을 올려놓지 않습니다. 장착부 문은 선반 용도로 설계되지 않았습니다.

전원 버튼

기기 전면의 전원 버튼을 누르면 기기와 기기 컴퓨터의 전원을 켤 수 있습니다. 전원 버튼은 기기의 전원 상태에 따라 다음과 같이 사용할 수 있습니다.

전원 상태	동작
기기의 전원이 꺼진 상태	버튼을 짧게 누르면 전원이 켜짐.
기기의 전원이 켜진 상태	버튼을 짧게 누르면 전원이 꺼짐. 정상적인 기기 종료임을 확인하는 대화 상자가 화면에 표시됨.
기기의 전원이 켜진 상태	전원 버튼을 10초간 길게 누르면 기기와 기기 컴퓨터가 강제 종료됨. 기기가 응답하지 않을 때만 이 방식으로 기기의 전원을 끄는 것을 권장.



참고

일반적인 상황에서는 기기의 전원을 끄지 않도록 합니다.

시퀀싱 런 진행 중에 기기의 전원을 끄면 그 즉시 런이 중단됩니다. 런은 중단하면 재개할 수 없습니다. 런 소모품은 재사용할 수 없으며, 시퀀싱 데이터도 저장되지 않습니다.

시스템 소프트웨어

MiniSeq의 Software Suite는 시퀀싱 런 및 기기 내 분석을 수행하는 통합 앱을 포함하고 있습니다.

- ▶ **MiniSeq Control Software(MCS)** — 시퀀싱 런 설정 과정을 단계별로 안내하고, 기기의 작동을 제어하며, 런 진행 상황에 따른 통계 데이터를 표시하는 소프트웨어.
- ▶ **Real-Time Analysis(RTA) 소프트웨어** — 런 수행 중 이미지 분석과 베이스 콜링(base calling)을 수행하는 소프트웨어. 자세한 내용은 [42페이지의 Real-Time Analysis의 개요](#) 섹션 참조.
- ▶ **Local Run Manager 소프트웨어** — 시퀀싱 수행 전에는 사용자가 런 파라미터 및 분석 방법을 설정하는 데 사용하고, 시퀀싱이 종료되면 기기 내에서 자동으로 데이터 분석을 시작하는 소프트웨어. 자세한 정보는 [Local Run Manager 소프트웨어 가이드\(문서 번호: 1000000002702\)](#) 참조.

상태 아이콘

런 설정 중이나 런 수행 중에 상태가 변경되면 Control Software 인터페이스 화면의 우측 상단에 상태 아이콘이 표시됩니다.

상태 아이콘	상태명	설명
	상태 양호	시스템 상태 정상.
	처리 중	시스템 처리 중.
	주의	주의 필요.
	경고	경고가 발생함. 경고가 발생해도 런은 중단되지 않으며, 다음 단계 진행 전 사용자가 따로 조치를 취할 필요는 없음.
	오류	오류가 발생함. 오류 발생 시 런을 계속 진행하려면 사용자가 조치를 취해야 함.

상태가 변경되면 아이콘이 깜박이며 사용자에게 경고합니다. 해당 컨디션에 대한 설명을 보려면 아이콘을 선택하면 됩니다. **Acknowledge**를 선택해 메시지를 확인하였음을 알린 후 **Close**를 선택해 대화 상자를 닫습니다.

시퀀싱용 소모품의 개요

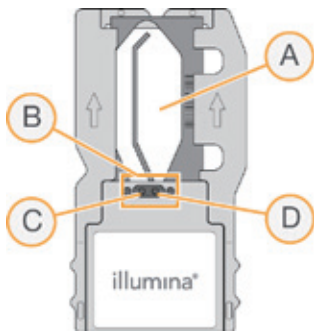
MiniSeq 시스템에서 시퀀싱 런을 수행하려면 일회용 MiniSeq Kit가 필요합니다. 각 키트에는 플로우 셀 1개와 시퀀싱 런에 필요한 시약이 들어 있습니다.

정확한 소모품의 추적 및 설정된 런 파라미터와의 호환을 위해 플로우 셀과 시약 카트리지에는 무선주파수 식별(radio-frequency identification, RFID) 기술이 사용됩니다.

플로우 셀

플로우 셀은 클러스터가 생성되고 시퀀싱 반응이 일어나는 유리 기반의 기질(substrate)입니다. 플로우 셀은 플로우 셀 카트리지 안에 들어 있습니다.

그림 4 플로우 셀 구성 요소



- A 이미징 영역
- B 플로우 셀 개스킷
- C 배출구 포트
- D 주입구 포트

시약은 주입구(inlet) 포트를 통해 플로우 셀로 주입된 후 단일 레인의 이미징 영역을 통과한 다음 배출구(outlet) 포트를 통해 플로우 셀에서 배출됩니다.

건조 상태의 플로우 셀을 플로우 셀 튜브에 담은 후 포일 패키지로 포장하여 배송합니다. 플로우 셀은 사용 전까지 밀봉된 포일 패키지 채로 2~8°C에서 보관하도록 합니다. 자세한 정보는 13페이지의 **플로우 셀 준비하기** 섹션을 참조하시기 바랍니다.

시약 카트리지의 개요

시약 카트리는 포일로 밀봉된 저장소 안에 클러스터링 시약, 시퀀싱 시약 및 워시 시약이 충전되어 있는 일회용 소모품입니다.

그림 5 시약 카트리지



시약 카트리지에는 준비한 라이브러리를 로딩하는 1개의 저장소가 지정되어 있습니다. 런이 시작되면 자동으로 라이브러리가 시약 카트리지에서 플로우 셀로 전달됩니다.



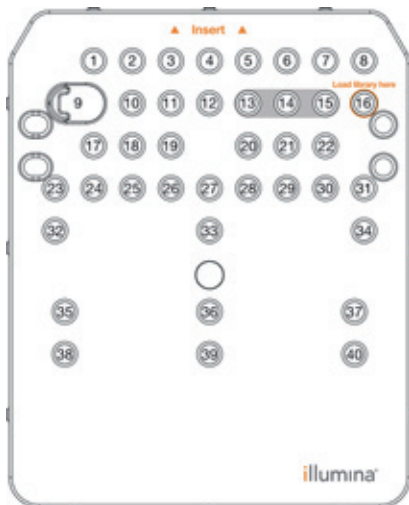
경고

해당 시약 세트는 잠재적 유해 화학물질을 함유하고 있으므로 흡입, 섭취, 피부 접촉, 눈 접촉 시 부상을 초래할 수 있습니다. 노출 위험이 있으므로 보안경, 장갑, 실험복 등 적합한 보호 장비를 착용하도록 합니다. 사용한 시약은 화학 폐기물로 취급하고 국가 및 해당 지역 법률 및 규정에 따라 폐기합니다. 그 밖의 환경, 건강, 안전 관련 정보는 support.illumina.com/sds.html의 안전 보건 자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하시기 바랍니다.

시약 카트리는 사용 전까지 -25~-15°C에서 보관합니다. 자세한 정보는 13페이지의 *시약 카트리지 준비하기* 섹션을 참조하시기 바랍니다.

지정된 저장소

그림 6 번호가 할당된 저장소



포지션	설명
13, 14, 15	커스텀 프라이머(선택 사항)에 할당된 포지션
16	라이브러리 로딩 포지션

분리 가능한 9번 포지션의 저장소

이 사전 충전된 시약 카트리지는 9번 포지션의 Denaturation Reagent(변성 시약)에 포름아마이드(formamide)가 들어 있습니다. 시퀀싱 런 후 남은 미사용 시약을 안전하게 처리할 수 있도록 9번 포지션의 저장소는 분리가 가능하게 설계되었습니다. 자세한 정보는 [24페이지의 사용한 저장소 9번 포지션에서 분리하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

사전 설치된 데이터베이스 및 유전체

대부분의 분석 방법은 Alignment 수행을 위한 Reference를 요구합니다. 기기 컴퓨터에는 다양한 참조 데이터베이스 및 유전체(genome, 게놈)가 사전 설치되어 있습니다.

사전 설치	설명
데이터베이스	<ul style="list-style-type: none"> • miRbase for human • dbSNP for human • RefGene for human
유전체	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Arabidopsis thaliana</i> • <i>Bacillus cereus</i>_ATCC_10987 • cow(<i>Bos taurus</i>) • <i>E. coli</i> strain DH10B • <i>E. coli</i> strain MG1655 • fruit fly(<i>Drosophila melanogaster</i>) • human(<i>Homo sapiens</i>) build hg19 • <i>HumanRNAFusion</i> • mouse(<i>Mus musculus</i>) • PhiX • rat(<i>Rattus norvegicus</i>) • <i>Rhodobacter sphaeroides</i> 2.4.1 • <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 8325 • yeast(<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S288C)

2장 시작하기

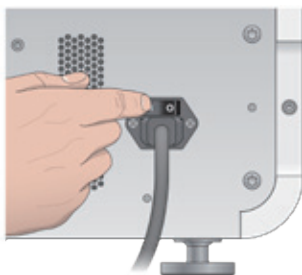
기기 시작하기	8
시스템 맞춤 설정하기	9
별도 구매 소모품 및 장비	10

기기 시작하기

먼저 기기가 올바르게 설치된 후 초기화되었는지, 또 기기의 설정이 완료되었는지 확인합니다. 모든 준비가 끝나기 전에 기기를 시작하면 시스템이 손상될 수 있습니다.

- 1 전원 토글 스위치를 I(켜짐) 위치로 설정합니다.

그림 7 기기 후면의 전원 스위치



- 2 시약 장착부 위에 위치한 전원 버튼을 누릅니다.
전원 버튼을 누르면 통합형 기기 컴퓨터와 OS가 실행됩니다.

그림 8 기기 전면의 전원 버튼



- 3 OS 로딩이 끝날 때까지 기다립니다.
초기화가 끝나면 Windows의 Home 화면이 나타납니다. 아무 키나 눌러 Windows 로그인 창을 엽니다.
- 4 원하는 Windows 계정으로 로그인합니다. 필요한 경우 해당 시설의 관리자에게 사용자 이름과 비밀번호를 요청하시기 바랍니다.
- 5 일반 사용자 계정을 선택할 경우 MiniSeq Control Software(MCS)가 시스템을 자동으로 실행하고 초기화합니다.
관리자 계정을 선택할 경우 MiniSeq Control Software(MCS)를 시작하려면 반드시 바탕화면에서 MiniSeq System 아이콘을 더블클릭해야 합니다.

시스템 맞춤 설정하기

Control Software는 기기 식별 정보 맞춤 설정 기능과 아래와 같은 워크플로우 설정 기능을 제공합니다.

- ▶ 런 설정 단계에서 온스크린(on-screen) 키보드 사용
- ▶ 런 종료 후 소모품 자동 제거(purge)
- ▶ 오디오 지표 설정
- ▶ Illumina로 기기 성능 데이터 전송
- ▶ 자동적인 런 시작을 위한 사전 런 검사(pre-run check) 확인 건너뛰기
- ▶ 자동적인 소프트웨어 업데이트 확인(BaseSpace Sequence Hub 내)
- ▶ 사용자 맞춤형 레시피 사용 지원

기기 식별 정보 맞춤 설정

- 1 Manage Instrument 화면에서 **System Customization**을 선택합니다.
- 2 기기에 아바타 이미지를 적용하려면 **Browse**를 누른 후 원하는 이미지를 찾아 선택합니다.
- 3 사용하고 싶은 기기의 별칭을 Nick Name 필드에 입력합니다.
- 4 **Save**를 눌러 설정값을 저장한 후 다음 화면으로 넘어갑니다. 설정한 이미지와 별칭은 각 화면의 좌측 상단에 표시됩니다.

소모품 자동 제거 옵션 설정

- 1 Manage Instrument 화면에서 **System Customization**을 선택합니다.
- 2 **Purge consumables at end of run** 체크 박스를 클릭합니다. 이 옵션을 활성화하면 각 런 완료 후 시약 카트리지에 남아 있는 미사용 시약이 폐시약 수거 용기로 자동으로 보내집니다. 이 옵션을 비활성화하면 미사용 시약이 제거되지 않고 시약 카트리지에 그대로 남게 됩니다.



참고

소모품 제거 옵션을 설정하면 워크플로우 시간이 자동으로 연장됩니다. 예를 들어, 300회 사이클 런 (2 × 151회) 종료 후 시약을 제거하는 데는 약 50분이 소요됩니다.

- 3 **Save**를 눌러 설정값을 저장한 후 화면을 닫습니다.

런 자동 시작 옵션 설정

- 1 Manage Instrument 화면에서 **System Customization**을 선택합니다.
- 2 **Skip pre-run check confirmation** 체크 박스를 클릭합니다. 이 옵션을 활성화하면 사전 런 검사 통과 후 자동으로 시퀀싱 런이 시작됩니다. 이 옵션을 비활성화하면 사전 런 검사 후 사용자가 수동으로 런을 시작해야 합니다.
- 3 **Save**를 선택합니다.

자동 소프트웨어 업데이트 확인 설정

- 1 Manage Instrument 화면에서 **System Customization**을 선택합니다.
- 2 **Automatically check for software updates** 체크 박스를 클릭합니다. 이 옵션을 사용하려면 인터넷 연결이 필요합니다.
- 3 **Save**를 눌러 설정값을 저장한 후 화면을 닫습니다.

온스크린 키보드 옵션 설정

- 1 Manage Instrument 화면에서 **System Customization**을 선택합니다.
- 2 **Use on-screen keyboard** 체크 박스를 클릭합니다.
이 옵션을 활성화하면 런 설정 단계에서 온스크린 키보드를 사용해 정보를 입력할 수 있습니다.
- 3 **Save**를 선택합니다.

오디오 지표 설정

- 1 Manage Instrument 화면에서 **System Customization**을 선택합니다.
- 2 다음과 같은 이벤트가 발생할 경우 이를 알려 주는 오디오 지표를 활성화하려면 **Play audio** 체크 박스를 클릭합니다.
 - ▶ 기기 초기화 시
 - ▶ 런 시작 시
 - ▶ 오류 발생 시
 - ▶ 사용자 조치 필요 시
 - ▶ 런 완료 시
- 3 **Save**를 선택합니다.

illumina로 기기 성능 데이터 전송 옵션 설정

Send Instrument Performance Data to Illumina 옵션은 기본적으로 활성화되어 있습니다. 이 옵션을 활성화하면 런 데이터는 제외하고 기기 성능 데이터만이 BaseSpace Sequence Hub 서버로 전송됩니다.

별도 구매 소모품 및 장비

시퀀싱을 수행하고 시스템을 유지 관리하려면 다음과 같은 소모품과 장비가 필요합니다.

시퀀싱용 소모품

소모품	공급 업체	용도
1 N NaOH (수산화 나트륨)	일반 실험기자재 공급 업체	라이브러리 변성을 위해 0.1 N 농도로 희석하여 사용.
Isopropyl alcohol wipes, 70% 또는 에탄올, 70%	VWR(카탈로그 번호: 95041-714) 또는 동일 사양 제품 일반 실험기자재 공급 업체	플로우 셀 클리닝 및 다용도로 사용.
일회용 장갑(powder-free)	일반 실험기자재 공급 업체	범용.
Lab tissue, low-lint	VWR(카탈로그 번호: 21905-026) 또는 동일 사양 제품	플로우 셀 클리닝에 사용.

유지 관리 및 문제 해결용 소모품

소모품	공급 업체	용도
NaOCl, 5% (차아염소산 나트륨)	Sigma-Aldrich(카탈로그 번호: 239305) 또는 동일 사양의 실험용 NaOCl	0.12%로 희석하여 수동 포스트런 워시에 사용.
Tween 20	Sigma-Aldrich(카탈로그 번호: P7949)	0.05%로 희석하여 기기 수동 워시에 사용.
실험용수	일반 실험기자재 공급 업체	기기 수동 워시에 사용.

실험용수 관련 가이드라인

기기 절차 수행 시 항상 실험용수 또는 탈이온수(deionized water, DIW)를 사용합니다. 수도물은 절대 사용하지 않습니다. 다음과 같은 물 또는 이와 동등한 물만 사용합니다.

- ▶ 탈이온수(DIW)
- ▶ Illumina PW1
- ▶ 18 MΩ의 물
- ▶ Milli-Q 물
- ▶ Super-Q 물
- ▶ 분자생물학 실험용수

장비

품목	공급 업체
자동 성에 제거(frost-free) 기능이 탑재된 -25~-15°C 냉동고	일반 실험기자재 공급 업체
얼음통	일반 실험기자재 공급 업체
2~8°C 냉장고	일반 실험기자재 공급 업체

3장 시퀀싱

- 소개 12
- 소모품 준비하기..... 13
- 시퀀싱을 위해 라이브러리 준비하기..... 14
- 시퀀싱 런 설정하기..... 14
- 런 진행 상황 모니터링하기..... 22
- 자동 포스트런 워시..... 24
- 사용한 저장소 9번 포지션에서 분리하기..... 24

소개

MiniSeq 시스템으로 시퀀싱 런을 수행하려면 먼저 런 소모품을 준비한 후 소프트웨어에 표시되는 메시지에 따라 시퀀싱 런을 설정해야 합니다.

워크플로우의 개요

클러스터 생성

클러스터 생성 단계에서는 단일 DNA 분자가 플로우 셀 표면에 결합된 후 증폭되어 클러스터를 형성합니다.

시퀀싱

형광 표지된 사슬 종결자(chain terminator) 각각에 특이적인 필터 조합과 2채널 시퀀싱 기법을 사용해 클러스터의 이미징이 수행됩니다. 플로우 셀에서 타일 1개의 이미징이 완료되면 다음 타일의 이미징이 시작됩니다. 이 프로세스는 시퀀싱 사이클마다 반복됩니다. 이미지 분석 후 소프트웨어가 베이스 콜링, 필터링 및 품질 채점을 수행합니다.

분석

Control Software는 런이 진행되는 동안 데이터 분석을 위해 자동으로 베이스 콜(BCL) 파일을 지정된 결과 폴더로 전송합니다. 애플리케이션과 시스템에 맞춰 선택한 분석 설정에 따라 여러 가지 분석 방법을 이용할 수 있습니다.

시퀀싱 런 소요 시간

시퀀싱 런 소요 시간은 수행된 사이클 횟수에 따라 다릅니다. 최대 런 길이(run length)는 150회 사이클 페어드 엔드(paired-end) 런으로 2개의 인덱스 리드를 사용할 경우 각각 최대 10회의 사이클이 추가됩니다.

예상 런 소요 시간 및 기타 시스템 사양은 Illumina 웹사이트의 [MiniSeq System Specifications](#) 페이지에서 확인하시기 바랍니다.

리드당 사이클 횟수

시퀀싱 런 수행 시 리드당 사이클 횟수는 분석된 사이클 횟수에 1을 더한 수입니다. 예를 들어, 150회 사이클 페어드 엔드 런의 경우 리드당 151회의 사이클(즉, 2 x 151)을 수행하므로 총 사이클 횟수는 302회입니다. 런이 종료되면 2 x 150회의 사이클이 분석됩니다. 리드별 여분의 사이클은 페이징(phasing) 및 프리페이징(prephasing) 계산에 사용됩니다.

소모품 준비하기

시약 카트리지를 준비하기

- 1 -25~-15°C에서 보관 중이던 시약 카트리지를 꺼냅니다.
- 2 다음과 같이 수조 조건에 따라 시약을 해동합니다. 카트리지가 물에 완전히 잠기지 않도록 주의합니다. 해동이 끝나면 밑부분의 물기를 제거한 후 다음 단계를 진행합니다.

해동 방법	해동 시간	안정성 제한
37°C의 수조	35분	최대 2시간
상온의 수조(19~25°C)	90분	최대 24시간

여러 개의 카트리지를 같은 수조에서 해동할 경우 해동 시간이 길어집니다. 수조를 사용하지 않을 경우 다음과 같은 방법으로 시약을 해동합니다.

해동 방법	해동 시간	안정성 제한
상온 해동(19~25°C)	5시간	최대 24시간
냉장 해동(2~8°C)	18시간	최대 72시간

- 3 카트리지를 상하로 5회 뒤집어 시약을 잘 섞어 줍니다.
- 4 사이즈가 큰 카트리지를 아랫부분부터 육안으로 검사하여 시약이 모두 해동되고 저장소에 얼음이 남아있지 않은지 확인합니다.
- 5 기포를 줄이기 위해 카트리지를 작업대에 가볍게 쳐 줍니다.

플로우 셀 준비하기

- 1 2~8°C에서 보관 중이던 새 플로우 셀 패키지를 꺼냅니다.
- 2 개봉하지 않은 플로우 셀 패키지를 30분간 실온에 방치합니다.



참고

반복적으로 플로우 셀의 온도를 낮췄다가 높이지 않도록 합니다.

- 3 포일 패키지를 개봉하고 플로우 셀 케이스를 꺼냅니다.
- 4 일회용 장갑(powder-free)을 양손에 끼입니다.
- 5 플라스틱 카트리지를 잡고 플로우 셀을 용기에서 꺼냅니다.

그림 9 플로우 셀 분리



- 6 보풀이 없는 알코올 티슈로 플로우 셀의 유리 표면을 닦습니다.

- 7 보풀이 없는 렌즈 클리닝 티슈로 알코올을 제거합니다. 이때 검은색 플로우 셀 개스킷 주변은 주의를 기울여 조심스럽게 닦습니다.
- 8 플로우 셀 포트에 이물질이 없는지 검사합니다. 개스킷이 제대로 장착되어 있는지 확인합니다.

시퀀싱을 위해 라이브러리 준비하기

라이브러리 변성 및 희석하기

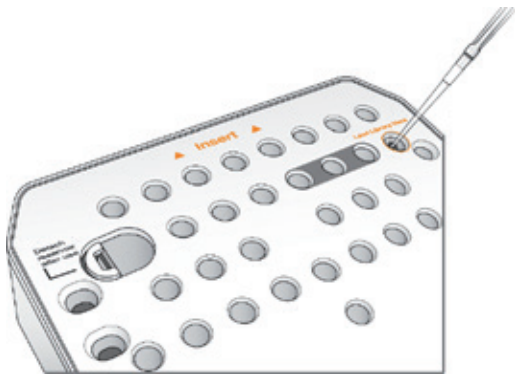
라이브러리를 시약 카트리지에 로딩하기 전에 라이브러리를 변성 및 희석한 후 PhiX Control(선택 사항)을 추가합니다. 자세한 내용은 *MiniSeq System Denature and Dilute Libraries Guide*(문서 번호: 100000002697)를 참조하시기 바랍니다.

MiniSeq 시스템의 로딩 볼륨은 500 μ l입니다. Standard Kit의 로딩 농도는 1.4 pM이고, Rapid Kit의 로딩 농도는 1.6 pM입니다. 실제 로딩 농도는 라이브러리 준비 방법과 정량 방법에 따라 달라질 수 있습니다.

라이브러리를 시약 카트리지에 로딩하기

- 1 티슈(low-lint)로 **Load library here**라고 표기된 **16번** 저장소를 덮고 있는 포일 씬을 닦습니다.
- 2 1 ml 피펫 팁으로 씬에 구멍을 뚫습니다.
- 3 500 μ l의 준비된 1.4 pM 또는 1.6 pM 라이브러리를 **16번** 저장소에 추가합니다. 라이브러리를 분주할 때 피펫이 포일 씬에 닿지 않도록 주의합니다.

그림 10 라이브러리 분주



시퀀싱 런 설정하기

런 설정 단계는 시스템 구성에 따라 차이가 있습니다.

- ▶ **Standalone configuration** — 시스템이 사용자에게 Control Software의 Run Setup 화면에서 런 파라미터를 설정하라는 메시지 표시.
- ▶ **Local Run Manager configuration** — Local Run Manager에 미리 설정되어 있는 런 목록에서 런 선택. System Settings의 User Management 기능이 활성화되어 있을 경우 로그인 정보 입력 필요. User Management는 기본적으로 비활성화되어 있음.

런 설정하기(Manual Configuration)

- 1 Home 화면에서 **Sequence**를 선택합니다. Sequence 명령어를 입력하면 이전 런에서 사용한 소모품을 제거할 수 있도록 소모품의 고정이 해제되며, 일련의 런 설정 화면이 열립니다.

- 2 Run Mode 화면에서 **Manual**을 선택합니다.
- 3 **선택 사항** — **Use BaseSpace Sequence Hub**를 선택합니다. Run Monitoring and Storage 또는 Run Monitoring Only를 선택합니다. 이 옵션을 활성화하면 BaseSpace Sequence Hub 로그인 및 인터넷 연결이 필요합니다.

런 파라미터 입력하기

- 1 원하는 런 이름을 입력합니다.
- 2 **[선택 사항]** 원하는 라이브러리 ID를 입력합니다.
- 3 Read Type으로 **Single read** 또는 **Paired end**를 선택합니다.
- 4 시퀀싱 런에 적용할 리드당 사이클 횟수를 입력합니다.
 - ▶ **Read 1** — 최대 151회까지 입력 가능.
 - ▶ **Index 1** — Index 1(i7) primer의 사이클 횟수를 최대 10회까지 입력 가능.
 - ▶ **Index 2** — Index 2(i5) primer의 사이클 횟수를 최대 10회까지 입력 가능.
 - ▶ **Read 2** — 최대 151회까지 입력 가능. 일반적으로 Read 1의 사이클 횟수와 동일.

Control Software가 입력된 사이클 횟수의 다음 기준 충족 여부를 확인합니다.

- ▶ 총 사이클 횟수가 해당 런의 수행을 위해 로딩한 시약 카트리지에 대해 최대 입력 가능한 사이클 횟수를 초과하지 않음.
- ▶ Read 1의 사이클 횟수가 템플릿 생성에 필요한 사이클 횟수인 6회보다 많음.
- ▶ Index Read의 사이클 횟수가 Read 1 및 Read 2의 사이클 횟수를 초과하지 않음.



참고

시퀀싱하려는 라이브러리에 적합한 Index Read 사이클 횟수를 입력했는지 확인합니다. 자세한 내용은 라이브러리 준비 지침 문서를 참조하시기 바랍니다.

- 5 **[선택 사항]** 커스텀 프라이머를 사용하는 경우 사용 중인 프라이머에 해당하는 체크 박스를 클릭합니다.
 - ▶ **Read 1** — Read 1의 커스텀 프라이머
 - ▶ **Index 1** — Index 1의 커스텀 프라이머
 - ▶ **Index 2** — Index 2의 커스텀 프라이머
 - ▶ **Read 2** — Read 2의 커스텀 프라이머
- 6 **[선택 사항]** 필요한 경우 현재 런의 설정을 다음과 같이 변경합니다.
 - ▶ **Purge consumables for this run** — 현재 런 완료 후 소모품을 자동으로 제거하도록 설정 변경.
 - ▶ **Output folder** — 현재 런의 결과 폴더 위치 변경. **Browse** 누른 후 원하는 폴더 위치 선택.
- 7 **Next**를 선택합니다.



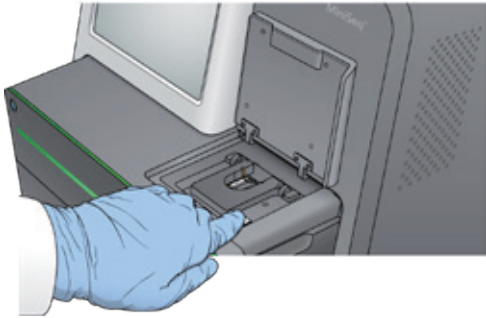
참고

자동 시스템 검사 또는 시퀀싱 런 진행 중에는 시약 장착부의 문이나 플로우 셀 장착부의 문을 열지 않도록 주의합니다.

플로우 셀 로딩하기

- 1 플로우 셀 장착부의 문을 엽니다.
- 2 플로우 셀 래치 오른쪽에 위치한 해제 버튼을 누릅니다.

그림 11 플로우 셀 래치 해제



- 3 이전 런에서 사용한 플로우 셀이 아직 기기에 남아 있다면 제거합니다.
- 4 플로우 셀 스테이지에 이물질이 없는지 확인합니다. 이물질이 있으면 알코올 티슈로 플로우 셀 스테이지를 닦습니다.
- 5 플로우 셀을 정렬 핀 위에 맞춰 올린 후 플로우 셀 스테이지에 장착합니다.

그림 12 플로우 셀 스테이지에 플로우 셀 장착



- 6 플로우 셀 래치를 걸어 플로우 셀을 플로우 셀 스테이지에 고정합니다.

그림 13 플로우 셀 래치 고정



- 7 플로우 셀 장착부의 문을 닫습니다.

시약 카트리지 로딩하기

- 1 시약 장착부의 문을 엽니다.
- 2 사용한 시약 카트리지가 아직 시약 장착부에 들어있는 경우 꺼냅니다.

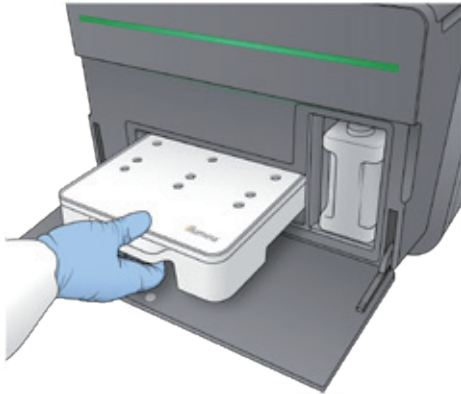


참고

폼아마이드가 들어있는 미사용 시약의 안전한 폐기를 위해 9번 포지션의 저장소는 분리가 가능하도록 설계되어 있습니다. 자세한 내용은 24페이지의 [사용한 저장소 9번 포지션에서 분리하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

- 3 시약 카트리지를 시약 장착부 안으로 끝까지 밀어 넣어 줍니다.

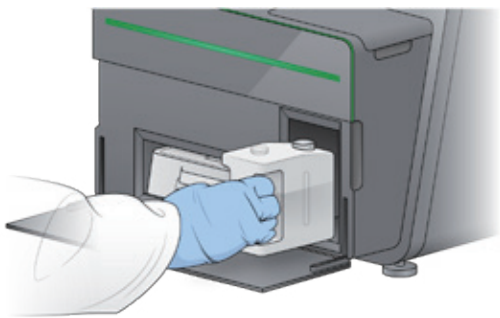
그림 14 시약 카트리지 장착



폐시약 수거 용기 비우기

- 1 폐시약 수거 용기를 장착부에서 꺼냅니다.

그림 15 폐시약 수거 용기 분리



- 2 폐시약 수거 용기를 운반할 때 시약이 흘러나오지 않도록 수거 용기 입구를 나사형 캡으로 막아줍니다.

그림 16 폐시약 수거 용기 캡 장착



- 3 관련 규정에 따라 시약을 폐기합니다.

**경고**

해당 시약 세트는 잠재적 유해 화학물질을 함유하고 있으므로 흡입, 섭취, 피부 접촉, 눈 접촉 시 부상을 초래할 수 있습니다. 노출 위험이 있으므로 보안경, 장갑, 실험복 등 적합한 보호 장비를 착용하도록 합니다. 사용한 시약은 화학 폐기물로 취급하고 국가 및 해당 지역 법률 및 규정에 따라 폐기합니다. 그 밖의 환경, 건강, 안전 관련 정보는 support.illumina.com/sds.html의 안전 보건 자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하시기 바랍니다.

- 4 나사형 캡을 닫지 않은 빈 수거 용기를 장착부 안으로 끝까지 밀어 넣어 줍니다.
- 5 장착부의 문을 닫은 후 **Next**를 선택합니다.

런 파라미터 확인하기

- 1 런 파라미터를 확인합니다.
Control Software가 입력된 사이클 횟수의 다음 기준 충족 여부를 확인합니다.
 - ▶ 총 사이클 횟수가 해당 런의 수행을 위해 로딩한 시약 카트리지에 대해 최대 입력 가능한 사이클 횟수를 초과하지 않음.
 - ▶ Read 1의 사이클 횟수가 템플릿 생성에 필요한 사이클 횟수인 6회보다 많음.
 - ▶ Index Read의 사이클 횟수가 Read 1 및 Read 2의 사이클 횟수를 초과하지 않음.

**참고**

시퀀싱하려는 라이브러리에 적합한 Index Read 사이클 횟수를 입력했는지 확인합니다. 자세한 내용은 라이브러리 준비 지침 문서를 참조하시기 바랍니다.

- 2 **[선택 사항] Edit**를 선택하여 런 파라미터를 변경합니다. 변경 완료 후 **Save**를 선택합니다.
 - ▶ **런 파라미터** – 리드 종류 또는 리드당 사이클 횟수 변경.
 - ▶ **커스텀 프라이머** – 커스텀 프라이머 설정값 변경.
- 3 **Next**를 선택합니다.

**참고**

자동 시스템 검사 또는 시퀀싱 런 진행 중에는 시약 장착부의 문이나 플로우 셀 장착부의 문을 열지 않도록 주의합니다.

사전 런 검사 결과 검토하기

- 1 자동 시스템 검사 결과를 확인합니다.
 - ▶ 진행 중인 검사를 중지하려면 **Cancel**을 선택합니다.
 - ▶ 검사에 통과하지 못한 항목이 있을 경우, 사용자가 각 항목에 필요한 조치를 취해야 다음 단계를 진행할 수 있습니다. 자세한 내용은 **33페이지의 자동 검사 오류** 섹션을 참조하시기 바랍니다.
 - ▶ 검사를 재시작하려면 **Retry**를 선택합니다. 첫 미완료 검사나 통과에 실패한 검사가 재개됩니다.
- 2 런을 시작하려면 다음 옵션 중 하나를 선택합니다.
 - ▶ 검사 통과 후 시스템이 자동으로 시작되도록 설정되어 있지 않은 경우 **Start**를 선택합니다.
 - ▶ 검사 통과 후 시스템이 자동으로 시작되도록 설정되어 있는 경우 시퀀싱 런이 자동으로 시작됩니다. 사용자가 직접 자동 시작 여부를 확인할 필요는 없습니다. 다만, 시스템 검사 중 오류가 발생했다면 런은 자동으로 시작되지 않습니다.

런 설정하기(Local Run Manager Configuration)

- 1 Home 화면에서 **Sequence**를 선택합니다.
Sequence 명령어를 입력하면 이전 런에서 사용한 소모품을 제거할 수 있도록 소모품의 고정이 해제되며, 일련의 런 설정 화면이 열립니다.
- 2 Run Setup 화면에서 **Local Run Manager**를 선택합니다.
- 3 **선택 사항** — **Use BaseSpace Sequence Hub**를 선택합니다. Run Monitoring and Storage 또는 Run Monitoring Only를 선택합니다. 이 옵션을 활성화하면 BaseSpace Sequence Hub 로그인 및 인터넷 연결이 필요합니다.

Local Run Manager에 로그인하기

- 1 사용자 이름과 비밀번호를 입력합니다.
Local Run Manager의 User Management 기능이 비활성화되어 있다면 로그인 정보는 입력하지 않아도 됩니다.
- 2 **Next**를 선택합니다.

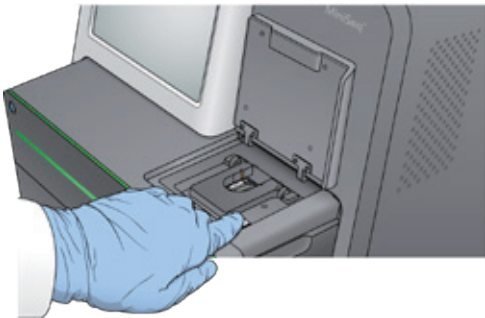
수행 가능한 런 선택하기

- 1 런 목록에서 원하는 런 이름을 선택합니다.
런 이름은 상하 화살표를 사용해 목록에서 찾거나, Search 필드에 직접 입력 가능합니다.
- 2 **Next**를 선택합니다.

플로우 셀 로딩하기

- 1 플로우 셀 장착부의 문을 엽니다.
- 2 플로우 셀 래치 오른쪽에 위치한 해제 버튼을 누릅니다.

그림 17 플로우 셀 래치 해제



- 3 이전 런에서 사용한 플로우 셀이 아직 기기에 남아 있다면 제거합니다.
- 4 플로우 셀 스테이지에 이물질이 없는지 확인합니다. 이물질이 있으면 알코올 티슈로 플로우 셀 스테이지를 닦습니다.
- 5 플로우 셀을 정렬 핀 위에 맞춰 올린 후 플로우 셀 스테이지에 장착합니다.

그림 18 플로우 셀 스테이지에 플로우 셀 장착



- 6 플로우 셀 래치를 걸어 플로우 셀을 플로우 셀 스테이지에 고정합니다.

그림 19 플로우 셀 래치 고정



- 7 플로우 셀 장착부의 문을 닫습니다.

시약 카트리지 로딩하기

- 1 시약 장착부의 문을 엽니다.
- 2 사용한 시약 카트리지가 아직 시약 장착부에 들어있는 경우 꺼냅니다.

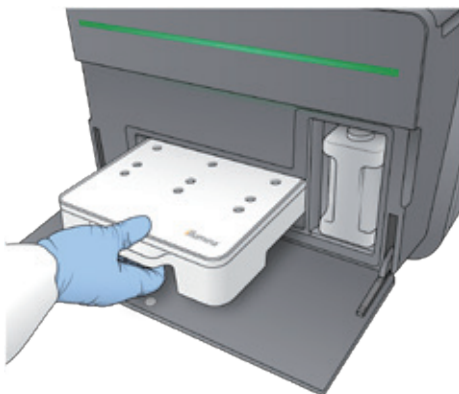


참고

폼아마이드가 들어있는 미사용 시약의 안전한 폐기를 위해 9번 포지션의 저장소는 분리가 가능하도록 설계되어 있습니다. 자세한 내용은 24페이지의 [사용한 저장소 9번 포지션에서 분리하기](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

- 3 시약 카트리지를 시약 장착부 안으로 끝까지 밀어 넣어 줍니다.

그림 20 시약 카트리지 장착

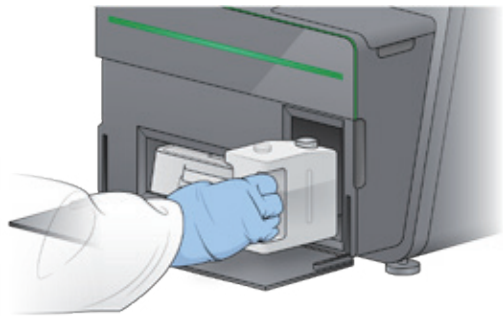


- 4 Recipe 드롭다운 목록에서 레시피를 선택합니다. 목록에는 호환 가능한 레시피만이 표시됩니다.

폐시약 수거 용기 비우기

- 1 폐시약 수거 용기를 장착부에서 꺼냅니다.

그림 21 폐시약 수거 용기 분리



- 2 폐시약 수거 용기를 운반할 때 시약이 흘러나오지 않도록 수거 용기 입구를 나사형 캡으로 막아줍니다.

그림 22 폐시약 수거 용기 캡 장착



- 3 관련 규정에 따라 시약을 폐기합니다.



경고

해당 시약 세트는 잠재적 유해 화학물질을 함유하고 있으므로 흡입, 섭취, 피부 접촉, 눈 접촉 시 부상을 초래할 수 있습니다. 노출 위험이 있으므로 보안경, 장갑, 실험복 등 적합한 보호 장비를 착용하도록 합니다. 사용한 시약은 화학 폐기물로 취급하고 국가 및 해당 지역 법률 및 규정에 따라 폐기합니다. 그 밖의 환경, 건강, 안전 관련 정보는 support.illumina.com/sds.html의 안전 보건 자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하시기 바랍니다.

- 4 나사형 캡을 닫지 않은 빈 수거 용기를 장착부 안으로 끝까지 밀어 넣어 줍니다.
- 5 장착부의 문을 닫은 후 **Next**를 선택합니다.

런 파라미터 확인하기

- 1 런 파라미터를 확인합니다.
Control Software가 입력된 사이클 횟수의 다음 기준 충족 여부를 확인합니다.
 - ▶ 총 사이클 횟수가 해당 런의 수행을 위해 로딩한 시약 카트리지에 대해 최대 입력 가능한 사이클 횟수를 초과하지 않음.
 - ▶ Read 1의 사이클 횟수가 템플릿 생성에 필요한 사이클 횟수인 6회보다 많음.
 - ▶ Index Read의 사이클 횟수가 Read 1 및 Read 2의 사이클 횟수를 초과하지 않음.



참고

시퀀싱하려는 라이브러리에 적합한 Index Read 사이클 횟수를 입력했는지 확인합니다. 자세한 내용은 라이브러리 준비 지침 문서를 참조하시기 바랍니다.

- 2 **[선택 사항] Edit**를 선택하여 런 파라미터를 변경합니다. 변경 완료 후 **Save**를 선택합니다.
 - ▶ **런 파라미터** – 리드 종류 또는 리드당 사이클 횟수 변경.
 - ▶ **커스텀 프라이머** – 커스텀 프라이머 설정값 변경.
- 3 **Next**를 선택합니다.



참고

자동 시스템 검사 또는 시퀀싱 런 진행 중에는 시약 장착부의 문이나 플로우 셀 장착부의 문을 열지 않도록 주의합니다.

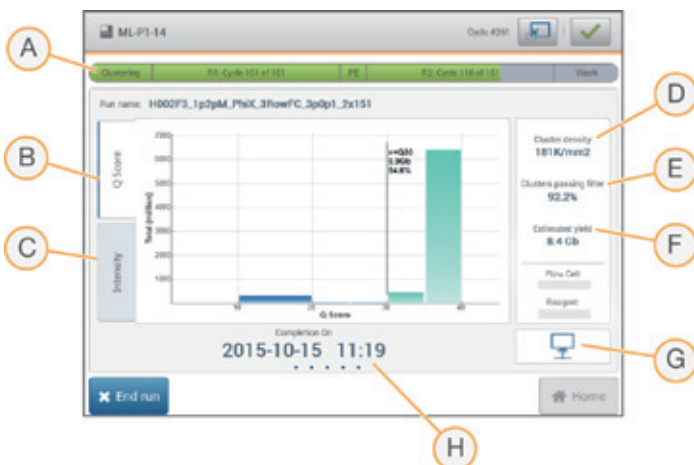
사전 런 검사 결과 검토하기

- 1 자동 시스템 검사 결과를 확인합니다.
 - ▶ 진행 중인 검사를 중지하려면 **Cancel**을 선택합니다.
 - ▶ 검사에 통과하지 못한 항목이 있을 경우, 사용자가 각 항목에 필요한 조치를 취해야 다음 단계를 진행할 수 있습니다. 자세한 내용은 33페이지의 **자동 검사 오류** 섹션을 참조하시기 바랍니다.
 - ▶ 검사를 재시작하려면 **Retry**를 선택합니다. 첫 미완료 검사나 통과에 실패한 검사가 재개됩니다.
- 2 런을 시작하려면 다음 옵션 중 하나를 선택합니다.
 - ▶ 검사 통과 후 시스템이 자동으로 시작되도록 설정되어 있지 않은 경우 **Start**를 선택합니다.
 - ▶ 검사 통과 후 시스템이 자동으로 시작되도록 설정되어 있는 경우 시퀀싱 런이 자동으로 시작됩니다. 사용자가 직접 자동 시작 여부를 확인할 필요는 없습니다. 다만, 시스템 검사 중 오류가 발생했다면 런은 자동으로 시작되지 않습니다.

런 진행 상황 모니터링하기

- 1 메트릭스(metrics)가 화면에 표시되면 런 진행 상황, Intensity, Q-Score를 모니터링합니다.

그림 23 시퀀싱 런 진행 상황 및 메트릭스



- A **런 진행 상황** – 현재 런 단계 및 리드당 종료된 사이클 횟수 표시. 진행 표시줄의 크기는 각 단계의 런 비율에 비례하지 않음.
- B **Q-Score** – Quality Score(품질 점수)의 분포. 자세한 내용은 45페이지의 **품질 채점** 섹션 참조.

- C **Intensity** — 타일별 90번째 백분위수의 클러스터 강도. 플롯의 색상은 각각의 베이스(염기)를 의미(빨간색 A, 초록색 C, 파란색 G, 검은색 T).
- D **Cluster Density(K/mm²)** — 런에서 검출된 클러스터의 수.
- E **Clusters Passing Filter(%)** — 필터를 통과하는 클러스터의 백분율. 자세한 내용은 [45페이지의 필터를 통과하는 클러스터](#) 섹션 참조.
- F **Estimated Yield(Gb)** — 런의 예상 베이스 수.
- G **데이터 전송 상태** — 분석 설정에 따른 데이터 전송 상태 표시.
- H **예상 완료 시간** — 예상 런 완료 일시(yyyy-mm-dd hh:mm) 표시.



참고

Home 버튼을 누르면 런 메트릭스를 확인하는 화면으로 돌아올 수 없습니다. 런 메트릭스는 BaseSpace에서 확인하거나, 네트워크로 연결된 컴퓨터에서 Sequencing Analysis Viewer(SAV)나 Local Run Manager를 사용해 확인 가능합니다.

런 메트릭스가 제공되는 사이클

런 메트릭스는 런 진행 중 특정 시점에 제공됩니다.

- ▶ 클러스터 생성 단계에는 런 메트릭스 미제공.
- ▶ 첫 5회의 사이클은 템플릿 생성에만 사용.
- ▶ 6번째 사이클에서 Cluster Density의 raw data와 1번째 사이클의 Intensity 확인 가능.
- ▶ Clusters Passing Filter, Yield, Q-Score는 25번째 사이클 후에 제공.

데이터 전송 상태

선택한 분석 설정에 따라 런이 진행되는 동안 연결 상태를 알려주는 아이콘이 화면에 표시됩니다.

상태	BaseSpace	Local Run Manager	Standalone
연결됨			
데이터 전송 중			
연결 끊김			
비활성			

여러 개의 아이콘이 한 번에 화면에 표시될 수 있습니다. 예를 들어, 런 데이터가 BaseSpace와 추가로 지정한 결과 폴더로 전송 중인 경우 BaseSpace 아이콘과 Standalone 아이콘이 모두 표시됩니다.

Universal Copy Service

MiniSeq System Software Suite에는 Universal Copy Service가 포함되어 있습니다. RTA가 파일을 생성하면 Universal Copy Service가 해당 파일을 지정된 결과 폴더로 복사합니다.

런 진행 중 데이터 전송이 중단될 경우, 데이터는 기기 컴퓨터에 임시 저장됩니다. 연결이 복구되면 데이터 전송은 자동으로 재개됩니다. 런이 종료될 때까지 연결이 복구되지 않을 경우, 사용자가 직접 데이터를 원하는 위치로 옮겨야 합니다.

BaseSpace로의 데이터 전송

Universal Copy Service는 런 데이터를 BaseSpace로 전송합니다. 데이터는 Universal Copy Service에서 BaseSpace로 지속적으로 전송됩니다.

사용자가 런 데이터의 저장 위치를 추가로 지정하면, 데이터가 Universal Copy Service의 상태와 관계없이 해당 위치로 전송됩니다.

자동 포스트런 워시

시퀀싱 런이 종료되면 소프트웨어가 시약 카트리지에 들어 있는 워시 용액과 NaOCl을 사용하여 자동 포스트런 워시 (post-run wash)를 시작합니다.

자동 포스트런 워시에는 약 60분이 소요됩니다. 워시가 완료되면 Home 버튼이 활성화됩니다. 워시가 진행되는 동안 시퀀싱 결과는 화면에 계속 표시됩니다.

워시 완료 후

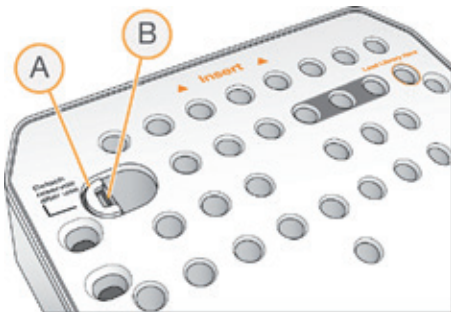
워시가 완료된 후 시스템에 공기가 유입되는 것을 방지하기 위해 시퍼(sipper)는 내려진 상태로 유지됩니다. 카트리지는 다음 런까지 그대로 제자리에 둡니다.

사용한 저장소 9번 포지션에서 분리하기

시약 카트리지의 9번 포지션 저장소에는 폼아마이드가 들어 있습니다. 사용한 시약 카트리지를 폐기하기 전에 9번 포지션의 저장소를 따로 분리하여 폐기할 수 있습니다.

- 1 장갑을 끼고 9번 포지션에 달린 흰색 저장소 분리 탭을 아래로 눌러 3개의 연결부를 분리합니다.

그림 24 9번 포지션 저장소 분리 탭

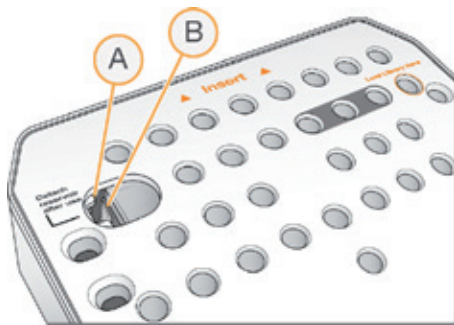


A 분리 전의 저장소 분리 탭

B 저장소 클립

- 2 저장소 분리 탭이 카트리지 커버 밑으로 들어갈 때까지 카트리지의 왼쪽을 향해 탭을 밀어줍니다.

그림 25 저장소 분리 탭 제거, 저장소 클립 노출



A 카트리지 커버 밑으로 이동한 저장소 분리 탭

B 저장소 클립

- 투명한 플라스틱 저장소 클립을 아래로 누른 상태에서 오른쪽으로 밀어줍니다. 저장소가 시약 카트리지 밑에서 분리됩니다.
- 분리한 저장소는 관련 규정에 따라 폐기합니다.



경고

해당 시약 세트는 잠재적 유해 화학물질을 함유하고 있으므로 흡입, 섭취, 피부 접촉, 눈 접촉 시 부상을 초래할 수 있습니다. 노출 위험이 있으므로 보안경, 장갑, 실험복 등 적합한 보호 장비를 착용하도록 합니다. 사용한 시약은 화학 폐기물로 취급하고 국가 및 해당 지역 법률 및 규정에 따라 폐기합니다. 그 밖의 환경, 건강, 안전 관련 정보는 support.illumina.com/sds.html의 안전 보건 자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하시기 바랍니다.

4장 유지 관리

소개 26
수동 워시 수행하기..... 26
소프트웨어 업데이트 29

소개

다음과 같은 유지 관리 절차가 기기 수동 워시와 업데이트가 있을 경우 시스템 소프트웨어 업데이트에 적용됩니다. 그 밖에 다른 정기적인 유지 관리는 필요하지 않습니다.

- ▶ **기기 워시** – 각 시퀀싱 런 완료 후 자동 포스트런 워시를 통해 기기의 성능 유지. 다만 특정 조건하에서는 기기 수동 워시 필요. 자세한 내용은 [26페이지의 수동 워시 수행하기](#) 섹션 참조.
- ▶ **소프트웨어 업데이트** – 업데이트된 System Suite 버전이 있는 경우 소프트웨어를 BaseSpace와의 연결을 통해 자동으로 업데이트하거나, Illumina 웹사이트에서 Installer를 다운로드한 후 수동으로 업데이트. 자세한 내용은 [29페이지의 소프트웨어 업데이트](#) 섹션 참조.

예방적 유지 관리

Illumina는 매년 예약을 통해 예방적 유지 관리 서비스(preventive maintenance service)를 받을 것을 권장하고 있습니다. 서비스 계약을 체결하지 않은 경우, 영업 담당자 또는 Illumina 기술지원팀과 상담 후 유료로 예방적 유지 관리 서비스를 받으시기 바랍니다.

수동 워시 수행하기

기기의 수동 워시 옵션으로는 Quick Wash와 Manual Post-Run Wash가 있습니다.

워시 옵션	설명
Quick Wash 소요 시간: 20분	지난 7일 동안 기기가 Idle Mode에 있었을 경우 또는 기기 종료(shutdown) 후 필요. 별도 구매 소모품인 Tween 20과 실험용수를 혼합한 워시 용액으로 기기 워시 수행.
Manual Post-Run Wash 소요 시간: 90분	런이 조기 종료되고 이후 재혼성화(rehybridization)를 위해 플로우 셀을 보관하는 경우와 같이 자동으로 포스트런 워시가 수행되지 않으면 수동으로 포스트런 워시를 수행해야 함. 별도 구매 소모품인 Tween 20과 실험용수를 혼합한 워시 용액 및 0.12% NaOCl로 시스템 세척.

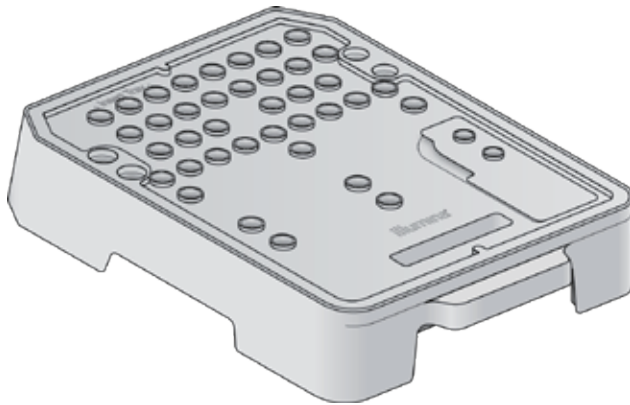


참고

항상 만든지 **24시간**이 지나지 않은 NaOCl 희석액을 사용하시기 바랍니다. NaOCl 희석액을 1 ml보다 많이 만든 경우, 남은 희석액은 2~8°C에 보관했다가 24시간 이내에 사용합니다. 남은 NaOCl 희석액을 24시간 이내에 사용할 수 없다면 폐기합니다.

수동 워시를 수행하려면 기기와 함께 제공된 워시 카트리지와 워시 플로우 셀 1개가 필요합니다. 워시 플로우 셀 대신 사용한 플로우 셀을 이용해도 됩니다.

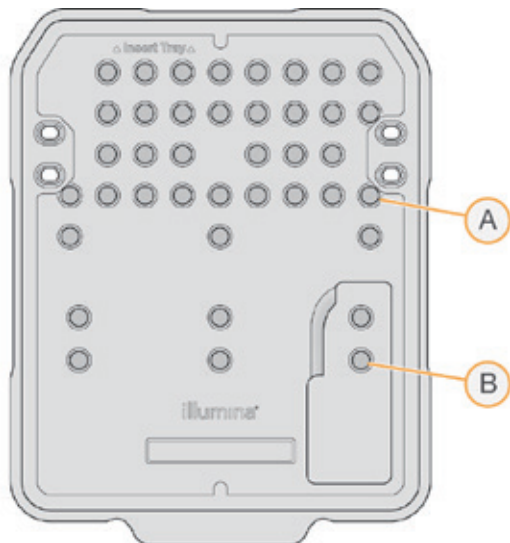
그림 26 워시 카트리지



수동 포스트런 워시 준비하기

- 1 다음을 혼합하여 0.12% NaOCl을 만듭니다.
 - ▶ 5% NaOCl(31 μ l)
 - ▶ 실험용수(1269 μ l)
- 2 1.3 ml의 0.12% NaOCl을 워시 카트리지에 넣습니다.
저장소 위치는 시약 카트리지의 **31번** 포지션입니다.

그림 27 NaOCl과 워시 용액의 위치



A 0.12% NaOCl

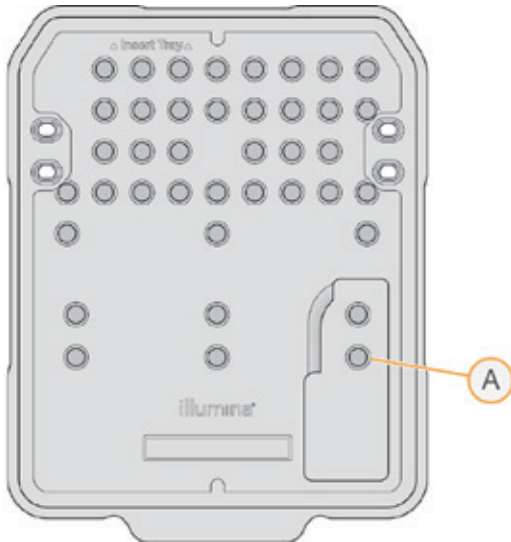
B 워시 용액

- 3 다음을 혼합해 0.05% Tween 20 워시 용액을 만듭니다.
 - ▶ 100% Tween 20(40 μ l)
 - ▶ 실험용수(80 ml)
- 4 워시 카트리지에 80 ml의 워시 용액을 넣습니다.
저장소 위치는 시약 카트리지의 **40번** 포지션입니다.
- 5 Home 화면에서 **Perform Wash**를 선택한 후 **Manual post-run wash**를 선택합니다.

퀵 워시 준비하기

- 1 다음을 혼합해 0.05% Tween 20 워시 용액을 만듭니다.
 - ▶ 100% Tween 20(20 µl)
 - ▶ 실험용수(40 ml)
- 2 워시 카트리지에 40 ml의 워시 용액을 넣습니다.
저장소 위치는 시약 카트리지의 **40번** 포지션입니다.

그림 28 워시 용액의 위치



A 워시 용액

- 3 Home 화면에서 **Perform wash**를 선택한 후 **Quick Wash**를 선택합니다.

워시 플로우 셀과 워시 카트리지 로딩하기

- 1 워시 플로우 셀을 장착합니다. 플로우 셀 클램프를 잠그고 플로우 셀 문을 닫습니다.



참고

워시 플로우 셀 대신 사용한 플로우 셀을 장착해도 됩니다.

- 2 이전 런에 사용한 시약 카트리지가 아직 안에 있다면 제거합니다.
- 3 준비된 워시 카트리지를 장착합니다.
- 4 기기에서 폐시약 수거 용기를 꺼내 관련 규정에 따라 용기 안의 내용물을 폐기합니다.



경고

해당 시약 세트는 잠재적 유해 화학물질을 함유하고 있으므로 흡입, 섭취, 피부 접촉, 눈 접촉 시 부상을 초래할 수 있습니다. 노출 위험이 있으므로 보안경, 장갑, 실험복 등 적합한 보호 장비를 착용하도록 합니다. 사용한 시약은 화학 폐기물로 취급하고 국가 및 해당 지역 법률 및 규정에 따라 폐기합니다. 그 밖의 환경, 건강, 안전 관련 정보는 support.illumina.com/sds.html의 안전 보건 자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하시기 바랍니다.

- 5 빈 폐시약 수거 용기를 장착부 안으로 끝까지 밀어 넣어 줍니다.
- 6 시약 장착부의 문을 닫습니다.
- 7 **Next**를 선택합니다.

워시 시작하기

- 1 자동 시스템 검사가 완료되면 **Start**를 선택합니다.
- 2 워시가 완료되면 **Home**을 선택합니다.

워시 완료 후

워시가 완료된 후 시스템에 공기가 유입되는 것을 방지하기 위해 시퍼(sipper)는 내려진 상태로 유지됩니다. 카트리지는 다음 런까지 그대로 제자리에 둡니다.


소프트웨어 업데이트

소프트웨어 업데이트는 아래와 같은 소프트웨어를 포함하는 소프트웨어 번들인 System Suite에 패키지의 형태로 제공됩니다.

- ▶ MiniSeq Control Software(MCS)
- ▶ MiniSeq 레시피
- ▶ RTA2
- ▶ Local Run Manager
- ▶ MiniSeq Service Software
- ▶ Universal Copy Service

Illumina 웹사이트의 MiniSeq System Support 페이지에서 소프트웨어 릴리스 노트(release notes)를 확인하실 수 있습니다.

소프트웨어 업데이트는 인터넷 연결을 통해 자동으로 설치하거나 네트워크 또는 USB 위치에서 수동으로 설치할 수 있습니다.

- ▶ **자동 업데이트** — 기기가 인터넷 액세스가 가능한 네트워크에 연결되어 있다면 새 업데이트가 있을 때 Home 화면의 Manage Instrument 버튼에 알림  아이콘이 표시됨.
- ▶ **수동 업데이트** — Illumina 웹사이트의 [MiniSeq System Support 페이지](#)에서 MiniSeq System Suite의 Installer 다운로드.



참고

업데이트 설치가 완료되기 전에 업데이트를 취소하면 설치 취소 시점에서 중단됩니다. 취소 시점까지 적용되었던 모든 변경 사항은 제거되지 않거나 이전 버전으로 되돌아갑니다.

자동 소프트웨어 업데이트

- 1 **Manage Instrument**를 선택합니다.
- 2 **Software Update**를 선택합니다.
- 3 **Install the update already downloaded from BaseSpace**를 선택합니다.
- 4 **Update**를 선택해 업데이트를 시작합니다. 업데이트 실행을 확인하는 대화 상자가 열립니다.
- 5 설치 마법사의 안내를 따릅니다.
 - a 라이선스 계약 동의.
 - b 업데이트에 포함된 소프트웨어의 목록 확인.

업데이트가 완료되면 Control Software가 자동으로 재시작됩니다.



참고

펌웨어 업데이트가 포함되어 있는 경우, 펌웨어 업데이트 후 자동 시스템 재시작이 필요합니다.

수동 소프트웨어 업데이트

- 1 Illumina 웹사이트에서 System Suite의 Installer를 다운로드한 후 허용 목록에 등록되어 있는 네트워크 위치에 저장합니다. Illumina에서는 네트워크 위치로 D:\Illumina 또는 C:\Illumina를 권장합니다. 또는 소프트웨어 설치 파일을 USB 드라이브에 복사합니다.
- 2 **Manage Instrument**를 선택합니다.
- 3 **Software Update**를 선택합니다.
- 4 **Manually install the update from the following location**을 선택합니다.
- 5 **Browse**를 눌러 소프트웨어 설치 파일을 찾아 선택한 후 **Update**를 선택합니다.
- 6 설치 마법사의 안내를 따릅니다.
 - a 라이선스 계약 동의.
 - b 업데이트에 포함된 소프트웨어의 목록 확인.

업데이트가 완료되면 Control Software가 자동으로 재시작됩니다.



참고

펌웨어 업데이트가 포함되어 있는 경우, 펌웨어 업데이트 후 자동 시스템 재시작이 필요합니다.

Rapid Kit 소프트웨어 요구 사항

MiniSeq 시스템과 함께 Rapid Kit를 사용하려면 MiniSeq Control Software(MCS) v2.1 또는 이후 버전이 필요합니다. v2.0에서 v2.1로의 버전 업데이트는 관리자(Admin)가 실행해야 합니다. MiniSeq Control Software(MCS) v2.0 또는 이후 버전 설치 시 Windows 10이 필요합니다.

부록 A 문제 해결

- 문제 해결 파일 32
- 자동 검사 오류 33
- RTA 오류 34
- 재혼성화 워크플로우 35
- 시스템 검사 36
- Network Configuration 설정값 39
- 맞춤형 유전체 40
- 기기 종료하기 40

문제 해결 파일

주요 파일	폴더	설명
런 정보 파일(RunInfo.xml)	Root	다음과 같은 정보 포함 <ul style="list-style-type: none"> • 런 이름 • 런의 사이클 횟수 • 리드당 사이클 횟수 • 인덱스 리드 여부 • 플로우 셀 스와스(swath) 및 타일(tile) 개수
런 파라미터 파일 (RunParameters.xml)	Root	런 파라미터 및 런 구성품에 대한 정보. (RFID, 시리얼 번호, 로트(lot) 번호, 유효 기간) 포함.
RTA 구성 파일 (RTAConfiguration.xml)	Data\Intensities	런에 대한 RTA 구성 설정값 포함. RTAConfiguration.xml 파일은 런 시작 시점에 생성됨.
InterOp 파일(*.bin)	InterOp	Sequencing Analysis Viewer에 사용되는 이진 보고서 파일. InterOp 파일은 런이 진행됨에 따라 업데이트됨.
로그 파일	Logs	기기에서 사이클별로 수행한 각각의 단계를 기술하고, 런에 사용한 소프트웨어와 펌웨어 버전 정보를 포함한 파일. [InstrumentName]_CurrentHardware.csv 파일에는 기기 부품의 시리얼 번호가 정리되어 있음.
오류 로그 파일 (*ErrorLog*.txt)	RTA Logs	RTA 오류를 기록한 파일. 오류 로그 파일은 오류가 발생할 때마다 업데이트됨.
글로벌 로그 파일 (*GlobalLog*.tsv)	RTA Logs	모든 RTA 이벤트를 기록한 파일. 글로벌 로그 파일은 런이 진행됨에 따라 업데이트됨.
레인 로그 파일 (*LaneLog*.txt)	RTA Logs	RTA 프로세싱 이벤트를 기록한 파일. 레인 로그 파일은 런이 진행됨에 따라 업데이트됨.

문제 해결 리소스

기술적인 문의 사항은 Illumina 웹사이트의 MiniSeq System Support 페이지를 참조하시기 바랍니다. Support 페이지에서는 Documentation, Software Downloads, FAQs와 같은 메뉴를 이용하실 수 있습니다.

Technical Bulletins를 이용하려면 MyIllumina 계정으로 로그인하시기 바랍니다.

런 품질이나 성능 관련 문제는 Illumina 기술지원팀에 문의하시기 바랍니다. 연락처는 [51페이지의 기술 지원](#) 섹션을 참조하시기 바랍니다.

BaseSpace가 제공하는 런 요약 내용의 링크를 Illumina 기술지원팀에 보내주시면 보다 원활하게 문제를 해결할 수 있습니다.

처리 상태

MiniSeq Control Software(MCS)는 최소 3건의 런에 대한 처리 상태를 시스템의 Temp 폴더에 저장합니다. Manage Instrument 화면에서 **Process status**를 선택합니다.

시스템은 런 이름별로 다음 항목의 상태를 보여줍니다.

- ▶ **Real-Time Analysis(RTA)** — BCL 파일 처리 상태
- ▶ **Local Run Manager** — 런에 Local Run Manager를 사용한 경우
- ▶ **File Copy** — Universal Copy Service를 사용한 파일 전송 상태
- ▶ **BaseSpace** — 런에 BaseSpace를 사용한 경우

Sequencing Archive 폴더

MiniSeq Control Software(MCS)는 기기에서 수행된 각 런에 대해 시스템 컴퓨터의 D:\Illumina\MiniSeq Sequencing Archive 폴더에 런 요약 파일을 저장합니다.

Sequencing Archive 폴더에는 기기에서 수행한 런별로 하위 폴더가 생성되어 있으며, 여기에는 다음과 같은 파일이 포함되어 있습니다.

- ▶ **RunCompletionStatus.xml** — 런 완료 상태, 런 폴더 이름, 계획/수행한 사이클 횟수, Cluster Density, Cluster Passing Filter 및 런의 예상 Yield 등의 수치 포함.
- ▶ **RunParameters.xml** — 런 파라미터 및 런 구성품에 대한 정보(RFID, 시리얼 번호, 로트(lot) 번호, 유효 기간) 포함.

자동 검사 오류

자동 사전 런 검사(pre-run check) 중 오류가 발생하면 다음과 같은 방법으로 오류를 해결할 수 있습니다.

사전 런 검사에 실패하면 시약 카트리지가 RFID는 잠기지 않으므로 다음 런에 사용할 수 있습니다. 그러나 포일 씬에 구멍이 뚫리면 RFID가 잠기게 됩니다.

시스템 검사	권장 조치
Doors closed	모든 장착부의 문이 닫혀 있는지 확인.
Consumables loaded	소모품 센서 인식 실패. 각 소모품이 올바르게 장착되어 있는지 확인. Run Setup 화면에서 Back 을 선택하여 로딩 단계로 돌아간 후 런 설정 반복.
Required software	소프트웨어 주요 구성 요소 누락. 수동 소프트웨어 업데이트를 통해 모든 소프트웨어 구성 요소 복구.
Instrument disk space	기기의 하드 드라이브가 실행 런을 수행하기에는 디스크 용량이 부족한 상태. 기기의 하드 드라이브에서 런 데이터 삭제 필요.
Network connection	지정한 결과 폴더 위치에 대한 연결이 중단됨. 검사 항목명은 Network connection이나, 시스템은 네트워크뿐만 아니라 서버, 외장 하드 드라이브 또는 로컬 하드 드라이브에 지정한 결과 폴더 위치에 대한 연결을 모두 검사함. 지정된 결과 폴더 위치에 대한 연결 상태 확인 필요.
Network disk space	지정한 결과 폴더 위치의 용량이 꽉 찬 상태. 검사 항목명은 Network disk space이나, 시스템은 네트워크뿐만 아니라 서버, 외장 하드 드라이브 또는 로컬 하드 드라이브에 지정한 결과 폴더 위치의 용량을 모두 검사함. 지정한 결과 폴더 위치의 디스크 용량 확보 필요.

온도	권장 조치
Temperature ramp	Illumina 기술지원팀에 문의.
Temperature sensors	Illumina 기술지원팀에 문의.
Fans	Illumina 기술지원팀에 문의.

이미징 시스템	권장 조치
Imaging limits	Illumina 기술지원팀에 문의.
Z step-and-settle	Illumina 기술지원팀에 문의.
Bit error rate	Illumina 기술지원팀에 문의.
Flow cell registration	플로우 셀이 올바르게 끼워져 있지 않을 가능성이 있음. <ul style="list-style-type: none"> Run Setup 화면에서 Back을 선택하여 플로우 셀 단계로 다시 이동. 플로우 셀을 제대로 끼우기 위해 꺼낸 후 재장착.

시약 전달	권장 조치
Valve response	Illumina 기술지원팀에 문의.
Pump	Illumina 기술지원팀에 문의.

하드 드라이브 공간

아래와 같은 런 파라미터로 1회의 런을 했을 때 생성되는 데이터 양을 기준으로 기기 컴퓨터의 하드 드라이브는 약 45회분의 런 데이터를 저장할 수 있습니다.

- ▶ 150회 사이클 페어드 엔드 런 수행 시 약 5~6 GB의 디스크 공간 필요.
- ▶ Local Run Manager Resequencing Analysis Module 사용 시 분석 파일을 위한 10 GB의 추가 공간 필요.

각 런이 수행될 때마다 소프트웨어가 실행되는 과정에서 임시 런 폴더가 생성됩니다. 파일은 이 임시 런 폴더에 쓰여진 후 결과 폴더로 복사됩니다. 따라서 사용자가 기기 하드 드라이브를 결과 폴더 위치로 설정하게 되면 하드 드라이브에 2개의 런 데이터 사본이 쓰여집니다. 소프트웨어는 가장 최근에 생성된 임시 런 폴더 3개를 저장합니다.

Local Run Manager 소프트웨어를 분석에 사용할 경우 기본적으로 임시 파일은 삭제되지 않습니다. 이 데이터 보존 정책은 Local Run Manager의 System Settings 화면에서 수동으로 설정됩니다.

시간이 지나면 임시 파일로 인해 하드 드라이브 공간이 부족해질 수 있습니다. 따라서 런 데이터는 네트워크 위치에 저장하고, Local Run Manager에서 수행하는 런의 횟수에 적합한 데이터 보존 정책을 설정하는 것을 권장합니다.

RTA 오류

RTA 오류를 해결하기 위해서는 먼저 RTALogs 폴더에 저장되어 있는 RTA 오류 로그를 확인해야 합니다. 성공적으로 완료된 런에는 RTA 오류 로그 파일이 없습니다. Illumina 기술지원팀에 문제 보고 시 오류 로그 파일도 함께 보내주시기 바랍니다.

오류 처리

RTA2는 로그 파일을 생성하여 이를 RTALogs 폴더에 씁니다. 오류는 *.tsv 형식의 오류 파일로 기록됩니다.

처리 완료 시 다음과 같은 로그 파일과 오류 파일이 최종 출력 위치로 전송됩니다.

- ▶ *GlobalLog*.tsv 파일은 중요한 런 이벤트를 요약합니다.
- ▶ *LaneNLog*.tsv 파일은 프로세싱 이벤트의 목록을 보여줍니다. MiniSeq 플로우 셀에서 “N”은 항상 1입니다.
- ▶ *Error*.tsv 파일은 런 수행 중 발생한 오류의 목록을 보여줍니다.
- ▶ *WarningLog*.tsv 파일은 런 수행 중 발생한 경고의 목록을 보여줍니다.

재혼성화 워크플로우

처음 몇 회의 사이클 중에 생성된 매트릭스에서 Intensity 수치가 2500 미만일 경우 재혼성화 런(rehybridization run)이 필요할 수도 있습니다. 다양성이 낮은 라이브러리는 Intensity 수치가 1000 미만일 수 있는데, 이는 예상되는 결과이며 재혼성화로 해결할 수 없습니다.



참고

End Run 명령어는 입력하면 취소할 수 없습니다. 런을 재개하거나 런 소모품을 재사용할 수 없으며, 해당 런의 시퀀싱 데이터도 저장되지 않습니다.

사용자가 런을 종료하고 플로우 셀을 보관하기로 선택하면, 소프트웨어는 런을 종료하기 전에 다음의 단계를 진행합니다.

- ▶ 플로우 셀을 안전한 곳에 위치시킵니다.
- ▶ 다음 런을 위해 플로우 셀 RFID를 잠금 해제합니다.
- ▶ 플로우 셀에 재혼성화 유효 기간을 설정합니다.
- ▶ 완료된 사이클에 대한 런 로그를 씁니다. 지연이 발생하는 것은 정상입니다.
- ▶ 자동 포스트런 워시 단계는 건너뛴니다.

사용자가 재혼성화 런을 시작하면, 소프트웨어는 런을 수행하기 위한 다음의 단계를 진행합니다.

- ▶ 고유한 런 이름에 따라 런 폴더를 생성합니다.
- ▶ 플로우 셀의 재혼성화 유효 기간이 지나지 않았는지 확인합니다.
- ▶ 시약을 프라이밍합니다. 지연이 발생하는 것은 정상입니다.
- ▶ 클러스터링 단계는 건너뛴니다.
- ▶ 기존의 Read 1 primer를 제거합니다.
- ▶ 새로운 Read 1 primer를 혼성화합니다.
- ▶ 설정된 런 파라미터에 따라 계속해서 Read 1과 런의 남은 단계를 진행합니다.

재혼성화를 위한 런의 종료 시점

다음 시점에 런을 종료해야만 나중에 재혼성화를 수행할 수 있습니다.

- ▶ **5번째 사이클 후** — Intensity 수치는 첫 5회의 시퀀싱 사이클이 요구되는 템플릿 생성 단계 후에 제공됨. 1번째 사이클 후에 런을 종료해도 무방하지만, 5번째 사이클 후에 런을 종료하는 것을 권장함. 클러스터 생성 중 런을 종료하지 않도록 주의.
- ▶ **Read 1 또는 Index 1 Read** — 페어드 엔드 재합성(resynthesis)이 시작되기 **전에** 런을 종료해야 함. 일단 페어드 엔드 재합성이 시작되면, 나중에 재혼성화를 위해 플로우 셀을 보관하는 것이 불가능함.

필수 소모품

런 중단 시점에 관계없이 재혼성화 런을 수행하려면 새 MiniSeq 시약 카트리지가 필요합니다.

현재 런 종료하기

- 1 **End Run**을 선택합니다. 런 종료 확인 메시지가 표시되면 **Yes**를 선택합니다.
- 2 플로우 셀 보관 메시지가 표시되면 **Yes**를 선택합니다. 재혼성화 유효 기간을 확인해 두시기 바랍니다.
- 3 보관해 두었던 플로우 셀을 꺼내어 재혼성화 런을 설정할 준비가 끝날 때까지 2~8°C에 보관합니다.



참고

플로우 셀은 플로우 셀 용기에 넣고 캡을 닫은 상태로 2~8°C에서 최대 7일까지 보관할 수 있습니다. 최상의 결과를 위해 보관했던 플로우 셀은 3일 안에 재혼성화하시기 바랍니다.

수동 워시 수행하기

- 1 Home 화면에서 **Perform Wash**를 선택합니다.
- 2 Wash Selection 화면에서 **Manual Post-Run Wash**를 선택합니다. 자세한 내용은 26페이지의 **수동 워시 수행하기** 섹션을 참조하시기 바랍니다.



참고

중단한 런에 사용했던 시약 카트리지를 아직 제거하지 않았다면, 이 카트리지를 사용해 수동 워시를 수행할 수 있습니다. 이미 카트리지를 제거했다면, 워시 카트리지를 사용해 수동 워시를 수행하도록 합니다.

기기에서 런 설정하기

- 1 새 시약 카트리지를 준비합니다.
- 2 보관해 둔 플로우 셀이 있는 경우, 플로우 셀을 꺼내어 실온에 도달할 때까지 방치합니다(15~30분).
- 3 보관해 두었던 플로우 셀을 잘 닦은 후 기기에 장착합니다.
시스템이 플로우 셀의 RFID 장치를 스캔하여 보관해 두었던 플로우 셀임을 인식하고 유효한 재혼성화 날짜를 확인합니다.
- 4 폐시약 수거 용기를 꺼내어 내용물을 적절하게 폐기한 후 빈 용기를 다시 장착합니다.
- 5 새로운 시약 카트리지를 장착합니다.
- 6 Run Setup 화면에서 다음 옵션 중 하나를 선택합니다.
 - ▶ **Local Run Manager configuration** — 런 선택 후 런 파라미터 확인.
 - ▶ **Manual configuration** — 런 이름 입력 후 원래 런과 동일한 파라미터 적용.
- 7 **Next**를 선택해 사전 런 검사를 진행하고 런을 시작합니다.

시스템 검사

일반 작동이나 기기 유지 관리 시 시스템 검사는 필요하지 않습니다. 하지만 Illumina 기술지원팀에서 문제 해결을 위해 시스템 검사를 요청할 수 있습니다.

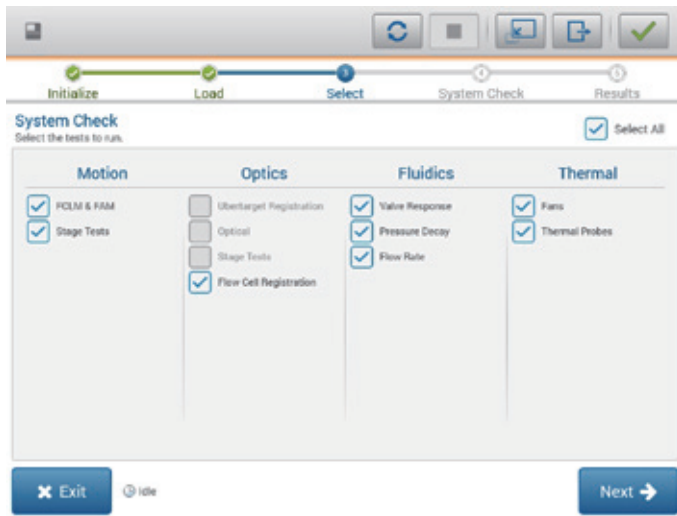


참고

기기 워시가 예정되어 있다면, 시스템 검사를 시작하기 전에 워시를 먼저 수행하시기 바랍니다.

시스템 검사를 시작하면 Control Software가 자동으로 종료되고 MiniSeq Service Software가 실행됩니다. MiniSeq Service Software가 실행되면 사용자가 고급 로딩 옵션을 사용할 수 있도록 구성된 Load 화면이 나타납니다.

그림 29 시스템 검사 항목

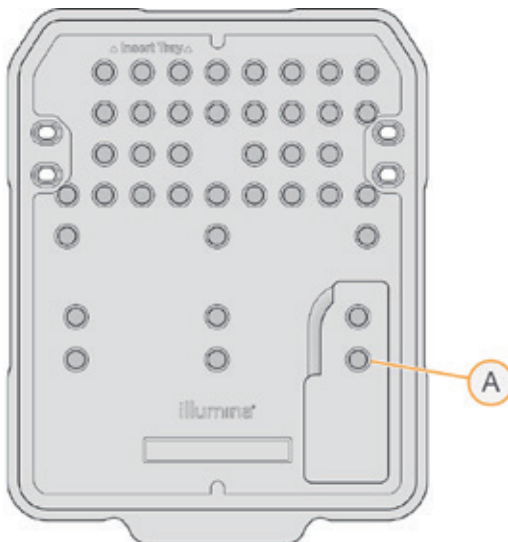


소모품 장착을 완료하면 Select 화면이 열리고 수행 가능한 시스템 검사 항목을 보여줍니다. Select 화면에서 체크 박스가 비활성화되어 있는 항목은 Illumina 담당자의 현장 지원이 필요한 검사입니다.

시스템 검사 수행하기

- 1 Manage Instrument 화면에서 **System Check**를 선택합니다. Control Software 종료 메시지가 표시되면 **Yes**를 선택합니다.
- 2 워시 카트리지에 40 ml의 탈이온수(DIW)를 넣습니다.
이때 사전 충전된 시약 카트리지의 **40번** 포지션과 동일한 위치에 있는 저장소에 DIW를 넣도록 합니다.

그림 30 워시 용액의 위치



A 워시 용액

- 3 다음 절차에 따라 소모품을 장착합니다.
 - a 사용한 플로우 셀이 이미 기기에 들어있지 않다면, 사용한 플로우 셀 1개를 기기에 장착합니다.
 - b 폐시약 수거 용기를 비운 후 다시 기기에 장착합니다.
 - c 워시 카트리지를 장착합니다.

- 4 **Load**를 선택합니다.
소프트웨어가 플로우 셀과 워시 카트리지를 제 위치로 옮깁니다.
- 5 **Next**를 선택합니다. 시스템 검사가 시작됩니다.
- 6 **[선택 사항]** 시스템 검사가 완료되면 검사 항목명 옆의 **View**를 선택해 각 검사와 관련된 수치를 확인합니다.
- 7 **Next**를 선택합니다.
시스템 검사 보고서가 화면에 나타납니다.
- 8 보고서를 압축 파일로 저장하려면 **Save**를 선택합니다. 압축 파일을 저장할 네트워크 위치를 찾아 선택합니다.
- 9 모두 완료되면 **Exit**를 선택합니다.
- 10 MiniSeq Service Software 종료 후 Control Software 재시작 메시지가 표시되면 **Yes**를 선택합니다.
Control Software가 자동으로 재시작됩니다.

Motion

시스템 검사	설명
FCLM & FAM	Flow Cell Load Mechanism(FCLM) 및 Fluidics Automation Module(FAM)의 게인(gain)과 거리(distance)를 검사하여 모듈의 정상 작동 여부 확인.
Stage Tests	XY 스테이지와 Z 스테이지의 이동 한계 및 성능 검사.

Optics

시스템 검사	설명
Flow Cell Registration	광학 부품의 평면에서의 플로우 셀 기울기 측정, 카메라의 기능과 이미징 모듈의 검사, 플로우 셀의 올바른 이미징 위치로의 인식 여부 확인.

Fluidics

시스템 검사	설명
Valve Response	밸브 및 펌프 움직임의 정확성 확인 및 펌프 시린지의 움직임 범위 검사.
Pressure Decay	밀봉된 유체 시스템의 누설률(leak rate)을 점검함으로써 플로우 셀이 시퀀싱 위치에 제대로 고정되어 있는지 확인.
Flow Rate	시약 라인에 존재하는 공기 방울의 감지에 사용되는 기포 감지 센서(bubble sensor)의 기능 확인. 막힘 또는 누설 확인을 위한 유량(flow rate) 측정.

Thermal

시스템 검사	설명
Fans	시스템 팬의 정상 작동 여부 확인을 위해 팬의 속도를 PPM(pulse per minute) 단위로 측정. 팬 미작동 시 음수 값 반환.
Thermal Probes	각 열 감지 센서(thermal sensor)의 평균 온도 확인. 열 감지 센서 미작동 시 음수 값 반환.

Network Configuration 설정값

네트워크 설정값은 설치 과정 중에 입력하게 됩니다. 시스템을 재구성해야만 하는 경우 사용자가 Network Configuration 화면에서 네트워크 설정값을 변경하거나 초기화할 수 있습니다. Network configuration 설정값으로는 IP 주소, DNS(domain name server, 도메인 네임 서버) 주소 및 도메인 이름이 있습니다.



참고

이 설정 옵션을 변경하기 위해서는 반드시 Windows OS 관리자 계정으로 로그인해야 합니다.

Network Configuration 설정하기

- 1 Manage Instrument 화면에서 **System configuration**을 선택합니다.
- 2 **Network configuration**을 선택합니다.
- 3 DHCP 서버를 이용하여 IP 주소를 받으려면 **Obtain an IP address automatically**를 선택합니다.



참고

DHCP(Dynamic Host Configuration Protocol, 동적 호스트 구성 프로토콜)는 네트워크 구성 파라미터를 동적으로 할당하기 위해 IP 네트워크에 적용하는 표준 네트워크 프로토콜입니다.

또는 아래와 같이 기기를 다른 서버에 수동으로 연결하려면 **Use the following IP address**를 선택합니다. 실제 시설의 IP 주소는 네트워크 관리자에게 문의하시기 바랍니다.

- ▶ IP 주소를 입력합니다. IP 주소는 점으로 구분된 4개의 숫자입니다(예: 168.62.20.37).
 - ▶ IP 네트워크의 서브 영역인 서브넷 마스크(subnet mask) 값을 입력합니다.
 - ▶ 인터넷에 연결된 네트워크의 라우터인 기본 게이트웨이(gateway) 값을 입력합니다.
- 4 IP 주소에 해당하는 DNS에 기기를 연결하기 위해 **Obtain a DNS server address automatically**를 선택합니다. 또는 아래와 같이 DNS에 기기를 수동으로 연결하려면 **Use the following DNS server addresses**를 선택합니다.
 - ▶ 선호하는 DNS 주소를 입력합니다. DNS 주소는 도메인 이름을 IP 주소로 변환하는 데 사용되는 서버 이름입니다.
 - ▶ 대체 DNS 주소를 입력합니다. 대체 DNS 주소는 선호하는 DNS 주소가 특정 도메인 이름을 IP 주소로 변환할 수 없을 때 사용됩니다.
 - 5 **Save**를 선택합니다.

컴퓨터 도메인 설정하기



참고

기기 컴퓨터의 이름은 제조 중 기기 컴퓨터에 부여됩니다. 컴퓨터 이름의 변경은 연결에 영향을 줄 수 있으며 네트워크 관리자의 지원이 필요합니다.

- 1 다음과 같이 기기 컴퓨터를 하나의 도메인 또는 작업 그룹(Workgroup)에 연결합니다.
 - ▶ **인터넷에 연결된 기기** — **Member of domain** 선택 후 실제 시설의 인터넷 연결과 관련이 있는 도메인 이름 입력.



참고

도메인 변경에는 관리자의 사용자 이름과 비밀번호가 필요합니다.

- ▶ **인터넷에 연결되지 않은 기기** — **Member of work group** 선택 후 작업 그룹 이름 입력. 작업 그룹 이름은 실제 시설의 고유한 이름.
- 2 **Save**를 선택합니다.

맞춤형 유전체

사용자는 기기 컴퓨터에 본인이 보유한 Reference를 FASTA 형식으로 업로드할 수 있습니다. 이때, 여러 개의 single FASTA 파일 **또는** 한 개의 multi-FASTA 파일(권장)을 업로드할 수 있으나, 두 가지 형식을 함께 업로드할 수는 없습니다.

맞춤형 유전체 파일 업로드 중 문제가 발생할 경우 다음을 확인하여 해결하도록 합니다.

- 1 파일의 확장자가 *.fa 또는 *.fasta인지 확인하고, 파일이 Reference에 지정된 폴더에 저장되어 있는지 확인합니다.
- 2 염색체(chromosome) 이름에 다음과 같은 문자가 포함되어 있지 않은지 확인합니다.

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

최상의 결과를 위해 염색체 이름에는 영문자와 숫자만을 입력하도록 합니다.

기기 종료하기

일반적인 상황에서는 사용자가 기기를 종료하지 않아도 됩니다.

- 1 **Manage Instrument**를 선택합니다.
- 2 **Shutdown options**를 선택합니다.
- 3 **Shut down**을 선택합니다.
Shut down 명령어는 안전하게 소프트웨어를 종료하고 기기의 전원을 끕니다. 최소 60초 동안 대기한 후 기기를 다시 켭니다. 다음 시퀀싱 런을 시작하기 전에 워시를 수행하도록 합니다.



주의

기기를 임의로 재배치하지 **않도록** 주의합니다. 부적절한 기기 운반은 기기의 광학부 성능 및 데이터 무결성에 영향을 줄 수 있습니다. 반드시 기기를 재배치해야 한다면 Illumina 담당자에게 요청하시기 바랍니다.

부록 B Real-Time Analysis

Real-Time Analysis의 개요 42
입력 및 출력 데이터..... 42
Real-Time Analysis의 워크플로우 43

Real-Time Analysis의 개요

Real-Time Analysis는 기기 컴퓨터에서 실행되며, 이미지에서 강도를 추출하여 베이스 콜링을 수행하고, 베이스 콜에 품질 점수를 배정하는 소프트웨어입니다.

MiniSeq 시스템은 Real-Time Analysis 소프트웨어를 구현한 RTA2를 실행합니다. 시스템의 Control Software와 RTA2는 웹 HTTP 인터페이스와 공유 메모리 파일을 통해 연결됩니다. RTA2가 종료되면 프로세싱은 재개되지 않으며, 런 데이터는 저장되지 않습니다.

입력 및 출력 데이터

입력 데이터

Real-Time Analysis 소프트웨어의 프로세싱에는 다음과 같은 파일이 필요합니다.

- ▶ 로컬 시스템 메모리에 있는 타일 이미지.
- ▶ 런 시작 시점에 자동으로 생성되며, 런 이름, 사이클 횟수, 인덱스 리드 여부, 플로우 셀의 타일 개수에 대한 정보를 제공하는 **RunInfo.xml** 파일

Real-Time Analysis 소프트웨어는 Control Software로부터 **RunInfo.xml** 파일의 위치와 추가적인 결과 폴더의 선택 여부에 대한 명령어를 수신합니다.

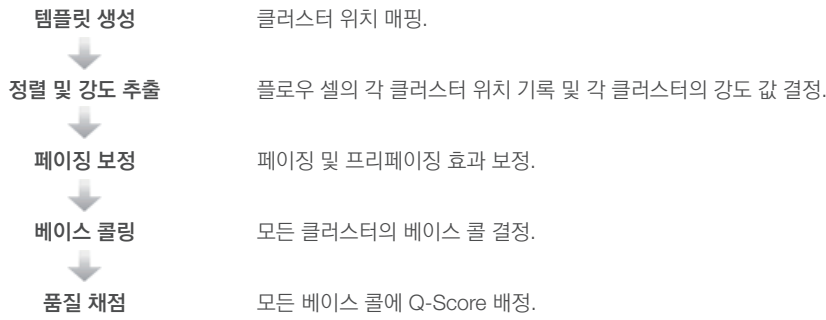
출력 데이터

각 채널의 이미지는 타일 형식으로 메모리에서 전달됩니다. 타일은 카메라의 시야각(field of view)으로 정의되는 플로우 셀에 있는 작은 이미징 영역입니다. Real-Time Analysis 소프트웨어는 이러한 이미지를 바탕으로 Q-Score가 배정된 베이스 콜 파일과 필터 파일을 출력합니다. 이러한 파일은 BaseSpace 또는 Local Run Manager Analysis Module들의 후속 분석에 사용됩니다.

파일 종류	설명
베이스 콜 파일	각 분석 타일은 레인별, 사이클별로 취합된 1개의 베이스 콜(*.bcl) 파일에 포함. 취합된 베이스 콜 파일은 해당 레인 내 모든 클러스터의 베이스 콜과 관련 Q-Score 포함.
필터 파일	각 타일은 레인당 1개의 필터(*.filter) 파일로 취합되는 필터 정보 생성. 필터 파일은 클러스터의 필터 통과 여부 명시.
클러스터 위치 파일	클러스터 위치(*.locs) 파일은 1개의 타일 내 모든 클러스터의 XY 좌표 포함. 템플릿 생성 중 레인별로 1개의 클러스터 위치 파일 생성.
베이스 콜 인덱스 파일	원래의 타일 정보를 보존하기 위해 레인당 1개의 베이스 콜 인덱스(*.bci) 파일 생성. 인덱스 파일은 타일별로 두 가지 값(타일 번호와 클러스터 개수) 제공.

RTA2는 실시간 런 품질 매트릭스를 InterOp 파일로 저장하여 제공합니다. InterOp 파일은 타일, 사이클 및 리드 관련 매트릭스를 포함하는 이진 파일입니다. Sequencing Analysis Viewer(SAV) 소프트웨어를 통해 실시간 매트릭스를 확인할 때 InterOp 파일이 사용됩니다.

Real-Time Analysis의 워크플로우



템플릿 생성

RTA의 워크플로우는 XY 좌표를 사용해 1개의 타일 내 각 클러스터의 위치를 결정하는 템플릿 생성 단계로 시작됩니다.

템플릿 생성에는 런에서 첫 5회의 사이클 동안에 생성된 이미지 데이터가 필요합니다. 1개의 타일에 대한 마지막 템플릿 사이클의 이미징이 완료되면 템플릿이 생성됩니다.



참고

템플릿 생성 단계에서 클러스터를 검출하기 위해서는 첫 5회의 사이클 중 G 외에 한 가지 이상의 베이스(염기)가 반드시 있어야 합니다.

이렇게 생성된 템플릿은 다음 정렬 및 강도 추출 단계에 참조용으로 사용됩니다. 전체 플로우 셀의 클러스터 포지션은 레인당 하나의 클러스터 위치(*.locs) 파일에 쓰여집니다.

정렬 및 강도 추출

정렬과 강도 추출 작업은 템플릿 생성 후에 시작됩니다.

- ▶ 정렬은 모든 후속 이미징 사이클을 통해 생성된 이미지를 템플릿에 맞추는 작업입니다.
- ▶ 강도 추출은 한 장의 이미지에 대해 템플릿 내 각 클러스터의 Intensity 값을 결정하는 작업입니다.

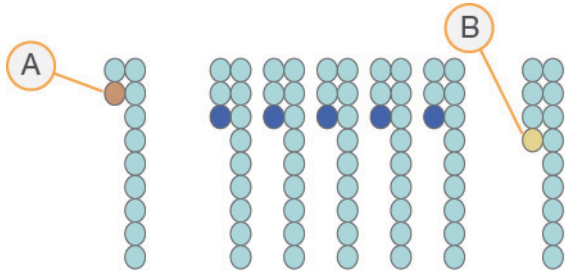
특정 사이클에서 이미지 정렬 실패가 발생하는 경우, 강도가 추출되지 않으며 그 사이클에서는 해당 타일에 대해 모든 베이스 콜링 결과가 “N”으로 보고됩니다. Sequencing Analysis Viewer(SAV) 소프트웨어를 통해 정렬에 실패한 타일과 사이클을 확인할 수 있습니다. 정렬에 실패한 타일과 사이클은 Imaging 탭의 P90 열에 결과값이 0으로 표시되므로 쉽게 식별이 가능합니다.

페이징 보정

시퀀싱 반응이 일어날 때 하나의 클러스터 내 DNA 가닥(strand)은 각각 사이클당 1 베이스만큼 연장됩니다. 페이징과 프리페이징은 현재의 포함(incorporation) 사이클에서 한 가닥이 역위상(out of phase)될 때 발생합니다.

- ▶ 페이징은 베이스가 뒤쳐질 때 발생합니다.
- ▶ 프리페이징은 베이스가 건너될 때 발생합니다.

그림 31 페이징 및 프리페이징



- A 리드에 베이스 페이징이 발생하는 경우
- B 리드에 베이스 프리페이징이 발생하는 경우

RTA2는 페이징 및 프리페이징 효과를 보정하여 런 전반에 걸쳐 모든 사이클에서 데이터 품질을 극대화합니다.

베이스 콜링

베이스 콜링은 특정 사이클에서 1개의 타일 내 모든 클러스터에 대한 베이스(A, C, G 또는 T)를 결정하는 단계입니다. MiniSeq 시스템은 2채널 시퀀싱 기법을 사용하여 빨간색 채널과 초록색 채널을 통해 획득하는 2장의 이미지만으로 네 종류의 DNA 베이스에 대한 데이터를 인코딩할 수 있습니다.

한 장의 이미지에서 강도를 추출하고 다른 이미지와 비교하여 각각의 뉴클레오티드를 나타내는 네 개의 집단(population)을 얻습니다. 베이스 콜링 단계에서는 각 클러스터가 어떤 집단에 속하는지가 결정됩니다.

그림 32 클러스터 강도의 시각화

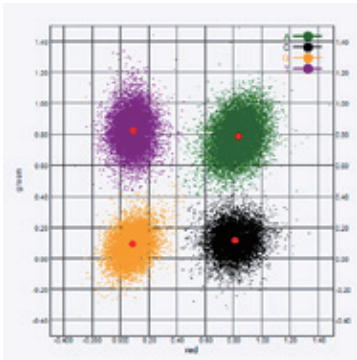


표 12 채널 시퀀싱의 베이스 콜

베이스	빨간색 채널	초록색 채널	결과
A	1(On)	1(On)	빨간색과 초록색 채널에서 강도를 보이는 클러스터.
C	1(On)	0(Off)	빨간색 채널에서만 강도를 보이는 클러스터.
G	0(Off)	0(Off)	알려진 위치에서 강도를 보이지 않는 클러스터.
T	0(Off)	1(On)	초록색 채널에서만 강도를 보이는 클러스터.

필터를 통과하는 클러스터

RTA2는 데이터 품질 임계값 미만의 클러스터를 제거하기 위해 런 수행 중 raw data를 필터링합니다.

2채널 분석 시 RTA2는 집단 기반의 시스템을 사용해 특정 베이스 콜의 Chastity(신호 순도) 값을 파악합니다. 첫 25회 사이클 내에서 1개 이하의 베이스 콜만이 허용 불가능한 Chastity 값을 가질 때 클러스터가 필터를 통과(pass filter, PF)합니다. 필터를 통과하지 못한 클러스터는 이후 사이클에서 베이스 콜링되지 않습니다.

인덱싱 관련 고려 사항

인덱스 리드의 베이스 콜링 프로세스는 다른 리드의 베이스 콜링 프로세스와 차이가 있습니다.

인덱스 리드의 경우 첫 2회의 사이클 중 최소 1회는 반드시 G 외에 한 가지 이상의 베이스로 시작해야 합니다. 인덱스 리드의 베이스 콜 2개가 G로 시작하는 경우에는 신호 강도가 생성되지 않습니다. 최상의 디멀티플렉싱(demultiplexing) 성능을 위해서는 첫 2회의 사이클 중 1회의 사이클에 신호가 반드시 존재해야 합니다.

디멀티플렉싱 성능을 강화하려면 모든 사이클에서 적어도 한 채널(가능하다면 두 채널 모두)에서는 신호를 제공하는 인덱스 시퀀스를 선택하시기 바랍니다. 이 지침을 준수하면 어느 사이클에서든 G 베이스만을 제공하는 인덱스 조합을 피할 수 있습니다.

- ▶ 빨간색 채널 — A 또는 C
- ▶ 초록색 채널 — A 또는 T

이러한 베이스 콜링 프로세스는 low-plex 샘플 분석 시 정확도를 확보해 줍니다.

품질 채점

Q-Score(Quality Score, 품질 점수)는 부정확한 베이스 콜의 발생 확률을 예측한 값입니다. Q-Score가 높을수록 베이스 콜의 품질과 정확도가 높을 가능성이 큼니다.

Q-Score는 사소한 오류가 발생할 확률을 간결하게 표시합니다. Q-Score는 Q(X) 형식으로 표시되며, (X)는 점수를 나타냅니다. 다음 표는 Q-Score와 오류 발생 확률의 상관관계를 보여줍니다.

Q-Score Q(X)	오류 발생 확률
Q40	0.0001(1/10,000)
Q30	0.001(1/1,000)
Q20	0.01(1/100)
Q10	0.1(1/10)



참고

품질 채점은 수정된 Phred 알고리즘 버전을 기반으로 합니다.

품질 채점 단계에서는 각 베이스 콜에 대한 여러 예측 인자를 계산한 뒤 계산된 값을 이용해 Q-Table(품질 표)에서 Q-Score를 찾습니다. Q-Table은 시퀀싱 플랫폼의 특정 구성 및 chemistry 버전에 따라 생성되는 런의 품질을 정확하게 예측하기 위해 생성됩니다.

Q-Score가 결정된 후 채점 결과는 베이스 콜 파일에 기록됩니다.

부록 C 결과 파일

출력 데이터

시퀀싱 결과 파일.....	46
시퀀싱 결과 폴더 구조.....	46
분석에 필요한 파일.....	47

시퀀싱 결과 파일

파일 종류	파일 설명, 위치, 이름
베이스 콜 파일	각 분석 타일은 사이클별로 취합된 1개의 베이스 콜 파일에 포함됨. 취합된 파일은 모든 클러스터에 대한 베이스 콜과 인코딩된 Q-Score를 포함함. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [Cycle].bcl.bgzf 파일에서 [Cycle]은 4자리 사이클 번호를 의미함. 베이스 콜 파일은 블록 압축(gzip)을 사용하여 압축됨.
베이스 콜 인덱스 파일	이진 인덱스 파일은 각 레인별로 고유의 타일 정보를 타일 번호와 클러스터 개수 두 가지 값으로 제공함. 베이스 콜 인덱스 파일은 베이스 콜 파일이 처음 생성되는 시점에 생성됨. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[Lane].bci
클러스터 위치 파일	각 타일 내 모든 클러스터의 XY 좌표가 1개의 클러스터 위치 파일로 취합됨. 클러스터 위치 파일은 템플릿 생성 단계 후 생성됨. Data\Intensities\L001 s_[lane].locs
필터 파일	필터 파일은 클러스터의 필터 통과 여부를 명시함. 필터 정보는 리드별로 1개의 필터 파일로 취합됨. 필터 파일은 25회의 사이클 데이터를 이용해 26번째 사이클에 생성됨. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane].filter
InterOp 파일	Sequencing Analysis Viewer에 사용되는 이진 보고서 파일. InterOp 파일은 런이 진행됨에 따라 업데이트됨. InterOp 폴더
RTA 구성 파일	RTA 구성 파일은 런 시작 시점에 생성되며 런의 설정값을 제공함. [Root folder], RTAConfiguration.xml
런 정보 파일	런 이름, 리드당 사이클 횟수, 인덱스 리드 여부, 플로우 셀의 스와스 및 타일 개수에 대한 정보를 포함함. 런 정보 파일은 런 시작 시점에 생성됨. [Root folder], RunInfo.xml

시퀀싱 결과 폴더 구조

Control Software가 결과 폴더의 이름을 자동으로 생성합니다.

- 📁 Configs
- 📁 Data
 - 📁 Intensities
 - 📁 BaseCalls
 - 📁 L001 — 사이클별로 취합된 베이스 콜 파일
 - 📁 L001 — 취합된 *.locs 파일

Images

Focus

L001 — 포커스 이미지

InstrumentAnalyticsLogs — 기기 분석 단계를 설명하는 로그 파일

InterOp — Sequencing Analysis Viewer(SAV)가 사용하는 이진 파일

Logs — 작업 단계가 기록된 로그 파일

Recipe — 시약 카트리리지 ID가 파일명인 런별 레시피 파일

RTALogs — 분석 단계가 기록된 로그 파일

RTAComplete.xml

RTAConfiguration.xml

RunInfo.xml

RunNotes.xml

RunParameters.xml

분석에 필요한 파일

Local Run Manager로 분석이나 재분석을 수행하기 위해서는 시퀀싱 런 과정에서 생성된 아래와 같은 파일이 필요합니다. 일부 Analysis Module은 분석 수행 시 추가적인 파일을 요구합니다. 자세한 정보는 사용 중인 Analysis Module의 Workflow Guide를 참조하시기 바랍니다.

파일 이름/종류	설명
RTAComplete.txt	RTA 과정이 종료되었음을 알려 주는 지표 파일(marker file). Local Run Manager의 분석 수행이 가능하도록 트리거(trigger)함.
RunInfo.xml	시퀀싱 런의 리드 수 및 사이클의 횟수 등의 중요한 런 정보와 인덱스 리드 여부 포함.
베이스 콜 파일(*.bcl)	사이클별로 취합되는 파일로, 각 타일 내 모든 클러스터에 대한 베이스 콜과 인코딩된 Q-Score를 포함함.
필터 파일(*.filter)	클러스터의 필터 통과 여부를 명시함. 필터 정보는 리드별로 1개의 필터 파일로 취합됨.
클러스터 위치 파일(*.locs)	각 타일의 모든 클러스터에 대한 XY 좌표가 취합되어 있는 파일.

색인

번호

- 1차 분석
 - 클러스터 강도 44
- 2채널 시퀀싱 44

ㄱ

- 강도 44
- 결과 파일 46
- 교육 1
- 구성 설정 39
- 구성 요소
 - 상태 표시 바 2
 - 시약 장착부 2
 - 이미징 부품 장착부 2
 - 플로우 셀 장착부 2
- 기기 워시 26
- 기기 유지 관리
 - 소모품 11
- 기기 종료 40

ㄴ

- 데이터 전송
 - 아이콘 23
 - Universal Copy Service 24

ㄷ

- 런 매트릭스 22
- 런 설정 9
- 런 소요 시간 12
- 런 파라미터
 - Manual 런 모드 15
- 로그 파일
 - GlobalLog 34
 - LaneNLog 34
- 리드당 사이클 횟수 12

ㄹ

- 메트릭스
 - 베이스 콜링 44
 - Cluster Density 23
 - Intensity 23
- 문서 1
- 문제 해결
 - 기술지원 연락처 51
 - 다양성이 낮은 라이브러리 35
 - 런 문제 해결 파일 32
 - 사전 런 검사 33

- 시스템 검사 36
- 하드 드라이브 공간 34

ㅁ

- 베이스 콜링
 - 2채널 44
 - 인덱싱 관련 고려 사항 45
- 베이스 콜 파일 46
- 별도 구매 소모품 10, 11
- 분석
 - 결과 파일 46
 - 소프트웨어 4

ㅂ

- 사용자 이름과 비밀번호 8
- 사전 런 검사 18, 22
- 사전 런 검사 오류 33
- 사전 설치된 데이터베이스 7
- 상태 아이콘 4
- 상태 표시 바 2
- 소모품
 - 별도 구매 소모품 10
 - 시약 카트리지 6
 - 시퀀싱용 소모품 5
 - 실험용수 11
 - 워시 소모품 26, 27
 - 유지 관리용 소모품 11
 - 자동 제거 9
 - 플로우 셀 5
- 소프트웨어
 - Control Software 4
 - 기기 내 분석 4
 - 런 소요 시간 12
 - 수동 업데이트 30
 - 업데이트 확인 9
 - 이미지 분석과 베이스 콜링 4
 - 자동 업데이트 29
 - 초기화 8
- 소프트웨어 업데이트 29
- 시스템
 - System configuration 39
 - 검사 36
 - 시작하기 8
 - 전원 버튼 4
- 시스템 맞춤 설정하기 9
- 시약
 - 키트 준비 5
 - 폐기 방법 17, 20

- 시약 장착부 2
- 시약 카트리리지
 - 개요 6
 - 저장소 7, 16
 - 준비 13
- 시퀀싱 결과 파일 46
- 시퀀싱 런 설정하기 14
- 시퀀싱 워크플로우 43
- 실험용수 관련 가이드라인 11

O

- 아이콘
 - 상태 4
 - 오류 및 경고 4
- 예방적 유지 관리 26
- 오류
 - 발생 확률 45
- 오류 및 경고 4
 - 로그 파일 34
- 워시
 - 별도 구매 소모품 26
 - 수동 워시 26
 - 워시 구성품 26
 - 자동 워시 24
- 워크플로우
 - 런 매트릭스 22
 - 런 소요 시간 12
 - 사전 런 검사 18
 - 시스템 맞춤 설정하기 9
 - 시약 카트리리지 13, 16, 20
 - 시퀀싱 43
 - 시퀀싱 런 설정하기 14
 - 인덱싱 관련 고려 사항 45
 - 폐시약 수거 용기 비우기 17, 21
 - Manual 런 모드 15
 - NaOCl 27

ㅈ

- 재혼성화
 - Primer 35
- 전원 버튼 4, 8
- 전원 스위치 8

ㅊ

- 참조 유전체
 - 맞춤형 유전체 40

- 사전 설치된 유전체 7
- 파일 형식 7

ㅋ

- 클러스터 위치
 - 템플릿 생성 43
 - 파일 46

ㅌ

- 페이징 43
- 폐시약
 - 수거 용기 비우기 17, 21, 28
- 포름아마이드가 들어 있는 9번 포지션 24
- 포스트런 워시 24
- 폴더 위치 15
- 프리페이징 43
- 플로우 셀
 - 개요 5
 - 재혼성화 35
 - 준비 13
- 플로우 셀 래치 2
- 플로우 셀 장착부 2
- 필터를 통과하는 클러스터 45
- 필터 통과(PF) 45
- 필터 파일 42

ㅎ

- 하드 드라이브 공간 34
- 호환성
 - RFID 추적 5
 - 플로우 셀과 시약 카트리리지 5

로마자

B

- BaseSpace 1
 - 데이터 전송 아이콘 23

C

- Chastity 45
- Control Software 4

D

- dbSNP 데이터베이스 7

I

InterOp 파일 32, 46

L

Local Run Manager 4
locs 파일 46

M

Manual configuration 14
miRbase 데이터베이스 7

N

NaOCl(위시 소모품) 27

P

Phred 알고리즘 45

Q

Q-Score 45
Q-Table 45

R

Real-Time Analysis 소프트웨어 1, 4
구성 파일 46
RefGene 데이터베이스 7
RFID 추적 5
RTA2
오류 처리 34
종료 42
RunInfo.xml 32, 46

S

Sequencing Analysis Viewer 23
Support 페이지 1

U

Universal Copy Service 24

기술 지원

기술 지원은 Illumina 기술지원팀에 요청하시기 바랍니다.

웹사이트: www.illumina.com
이메일: techsupport@illumina.com

Illumina 기술지원팀 연락처

지역	무료 전화 번호	지역 전화 번호
네덜란드	+31 8000222493	+31 207132960
노르웨이	+47 800 16836	+47 21939693
뉴질랜드	0800.451.650	
대만, 중국	806651752	
대한민국	+82 80 234 5300	
덴마크	+45 80820183	+45 89871156
독일	+49 8001014940	+49 8938035677
벨기에	+32 80077160	+32 34002973
북미	+1.800.809.4566	
스웨덴	+46 850619671	+46 200883979
스위스	+41 565800000	+41 800200442
스페인	+34 911899417	+34 800300143
싱가포르	+1.800.579.2745	
아일랜드	+353 1800936608	+353 016950506
영국	+44 8000126019	+44 2073057197
오스트리아	+43 800006249	+43 19286540
이탈리아	+39 800985513	+39 236003759
일본	0800.111.5011	
중국	400.066.5835	
프랑스	+33 805102193	+33 170770446
핀란드	+358 800918363	+358 974790110
호주	+1.800.775.688	
홍콩, 중국	800960230	
기타 국가	+44.1799.534000	

안전 보건 자료(Safety Data Sheet, SDS) — Illumina 웹사이트(support.illumina.com/sds.html)에서 확인하실 수 있습니다.

제품 관련 문서 — support.illumina.com에서 다운로드하실 수 있습니다.

문서 번호: 1000000002695 v05 KOR

자료 번호: 20014309



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN(4566)

+1.858.202.4566(북미 이외 지역)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

연구 전용입니다. 진단 절차에는 사용할 수 없습니다.

© 2021 Illumina, Inc. All rights reserved.

illumina[®]