

Guide du système

MiniSeq



Ce document et son contenu sont exclusifs à Illumina, Inc. et à ses sociétés affiliées (« Illumina »); ils sont exclusivement destinés à l'usage contractuel de son client dans le cadre de l'utilisation du ou des produits décrits dans les présentes et ne peuvent servir à aucune autre fin. Ce document et son contenu ne seront utilisés ou distribués à aucune autre fin ni communiqués, divulgués ou reproduits d'aucune façon sans le consentement écrit préalable d'Illumina. Illumina ne cède aucune licence en vertu de son brevet, de sa marque de commerce, de ses droits d'auteur ou de ses droits traditionnels ni des droits similaires d'un tiers quelconque par ce document.

Les instructions contenues dans ce document doivent être suivies strictement et explicitement par un personnel qualifié et adéquatement formé de façon à assurer l'utilisation correcte et sûre du ou des produits décrits dans les présentes. Le contenu intégral de ce document doit être lu et compris avant l'utilisation de ce ou ces produits.

SI UN UTILISATEUR NE LIT PAS COMPLÈTEMENT ET NE SUIT PAS EXPLICITEMENT TOUTES LES INSTRUCTIONS CONTENUES DANS LES PRÉSENTES, IL RISQUE DE CAUSER DES DOMMAGES AU(X) PRODUIT(S), DES BLESSURES, NOTAMMENT AUX UTILISATEURS ET À D'AUTRES PERSONNES, AINSI QUE D'AUTRES DOMMAGES MATÉRIELS, ANNULANT AUSSI TOUTE GARANTIE S'APPLIQUANT AU(X) PRODUIT(S).

ILLUMINA DÉCLINE TOUTE RESPONSABILITÉ DÉCOULANT DE L'UTILISATION INAPPROPRIÉE DU OU DES PRODUITS DÉCRITS DANS LES PRÉSENTES (Y COMPRIS LEURS COMPOSANTES ET LE LOGICIEL).

© 2021 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.

Historique des révisions

Document	Date	Description des modifications
Support n° 20014309 Document n° 1000000002695 v05	Avril 2021	Index modifié de 8 cycles à 10 cycles.
Support n° 20014309 Document n° 1000000002695 v04	Septembre 2020	La concentration de chargement mise à jour et les renseignements logiciels doivent être compris dans les troussees rapides.
Support n° 20014309 Document n° 1000000002695 v03	Février 2020	Renseignements de flux de travail mis à jour pour les options d'analyse Manual (Manuel) et Local Run Manager. Génomes préinstallés mis à jour : Bacillus_cereus_ATCC_10987 a été supprimé et HumanRNAFusion a été ajouté. Suppression des renseignements sur BaseSpace Onsite car ils ne sont plus pris en charge. Corrections mineures apportées au texte.
Support n° 20014309 Document n° 1000000002695 v02	Mars 2018	Ajout de renseignements sur le service de surveillance Illumina Proactive à la section Configurer les paramètres d'analyse. Retrait du nom d'utilisateur et du mot de passe par défaut nécessaires pour la connexion au système d'exploitation. Illumina recommande l'utilisation d'identifiants spécifiques au site. Corrections mineures apportées au texte.
Support n° 20014309 Document n° 1000000002695 v01	Septembre 2016	Mise à jour des descriptions du logiciel de commande MiniSeq v1.1.8, qui comprend le mode démo. Mise à jour de la durée du lavage automatique après analyse, qui passé à 60 minutes. Ajout d'une étape de configuration du serveur aux instructions concernant la sélection de BaseSpace pour l'analyse. Ajout d'une remarque indiquant que les lecteurs mappés ne sont pas pris en charge par le logiciel Local Run Manager.
Support n° 20002370 Document n° 1000000002695 v00	Janvier 2016	Publication originale.

Table des matières

Chapitre 1 Vue d'ensemble	1
Introduction	1
Ressources supplémentaires	1
Composants de l'instrument	2
Présentation des consommables pour le séquençage	5
Bases de données et génomes préinstallés	7
Chapitre 2 Pour commencer	8
Démarrage de l'instrument	8
Personnaliser les paramètres du système	9
Consommables et équipement fournis par l'utilisateur	11
Chapitre 3 Séquençage	12
Introduction	12
Préparer les consommables	13
Préparer des bibliothèques pour le séquençage	14
Configurer une analyse de séquençage	14
Surveiller la progression de l'analyse	23
Lavage automatique après analyse	25
Retirer le réservoir usagé de la position n°9	25
Chapitre 4 Maintenance	28
Introduction	28
Effectuer un lavage manuel de l'instrument	28
Mises à jour logicielles	31
Annexe A Dépannage	34
Fichiers de dépannage	34
Erreurs de la vérification automatique	35
Erreurs RTA	37
Flux de travail de réhybridation	37
Vérification du système	39
Paramètres de configuration du réseau	41
Génomes personnalisés	42
Arrêt de l'instrument	43
Annexe B Real-Time Analysis	44
Présentation de Real-Time Analysis	44
Fichiers d'entrée et de sortie	44
Flux de travail de Real-Time Analysis	45
Annexe C Fichiers de sortie	48

Fichiers de sortie de séquençage	48
Structure des dossiers de sortie de séquençage	49
Exigences relatives aux fichiers d'entrée de l'analyse	49
Index	50
Assistance technique	53

Chapitre 1 Vue d'ensemble

Introduction	1
Ressources supplémentaires	1
Composants de l'instrument	2
Présentation des consommables pour le séquençage	5
Bases de données et génomes préinstallés	7

Introduction

Le système MiniSeq^{MC} d'Illumina^{MD} offre la technologie de séquençage de haute qualité aux normes du secteur allée à la commodité d'un système de bureau facile à utiliser et rentable.

Fonctionnalités

- ▶ **Séquençage de haute qualité** : le système MiniSeq permet le séquençage de petits génomes, d'amplicons, d'enrichissement ciblé et d'ARN à l'aide de faible volume de bibliothèques.
- ▶ **Logiciel du système MiniSeq** : le système MiniSeq comprend une suite logicielle intégrée qui commande les opérations de l'instrument, traite les images et génère des définitions des bases. Cette suite comprend un logiciel d'analyse des données sur instrument et des outils de transfert de données pour les analyses utilisant d'autres options, telles que BaseSpace Sequence Hub.
 - ▶ **Analyse des données sur instrument** : le logiciel Local Run Manager analyse les données de séquençage selon le module d'analyse spécifié pour ce dernier. Un ensemble de modules d'analyse sont compris dans le logiciel.
 - ▶ **Intégration de BaseSpace^{MD} Sequence Hub** : le flux de travail de séquençage est intégré à BaseSpace Sequence Hub, l'environnement informatique consacré à la génomique d'Illumina pour la surveillance des analyses, l'analyse des données, leur stockage et leur partage. Les fichiers de sortie sont transférés en temps réel vers BaseSpace Sequence Hub en vue de leur analyse.
- ▶ **Chargement pratique des consommables** : un mécanisme de pince positionne la Flow Cell lors de son chargement dans l'instrument. Une cartouche de réactifs préremplies à usage unique fournit les réactifs nécessaires à une analyse et au lavage de l'instrument qui s'ensuit. La Flow Cell et la cartouche de réactifs comprennent une identification intégrée pour permettre un suivi précis.

Ressources supplémentaires

Les [pages d'assistance du système MiniSeq](#) sur le site Web d'Illumina contiennent des ressources supplémentaires. Ces ressources comprennent des logiciels, des documents de formation, les produits compatibles et les documents ci-dessous. Consultez régulièrement les pages d'assistance pour voir la plus récente version de ces documents.

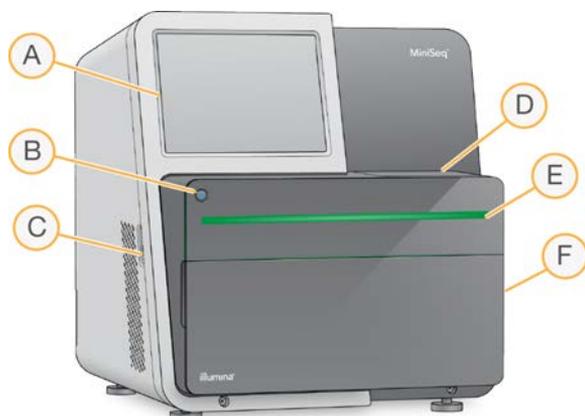
Ressource	Description
Custom Protocol Selector	Assistant pour la génération de la documentation personnalisée dans son intégralité en fonction de la méthode de préparation des bibliothèques, des paramètres d'analyse et de la méthode d'analyse utilisée pour le séquençage.
Guide de préparation du site du système MiniSeq (document n° 1000000002696)	Fournit les spécifications relatives à l'espace du laboratoire, les exigences électriques et les considérations environnementales.

Ressource	Description
<i>Guide de sécurité et de conformité du système MiniSeq (document n° 100000002698)</i>	Document contenant des renseignements concernant les questions de sécurité, les déclarations de conformité et l'étiquetage de l'instrument.
<i>Guide de conformité du lecteur RFID (document n° 100000002699)</i>	Fournit des renseignements sur le lecteur RFID de l'instrument, les certificats de conformité et les questions de sécurité.
<i>Guide de dénaturation et de dilution des bibliothèques pour le système MiniSeq (document n° 100000002697)</i>	Fournit des instructions pour la dénaturation et la dilution de bibliothèques préparées en vue d'une analyse de séquençage, et pour la préparation d'un contrôle PhiX facultatif.
<i>Guide du logiciel Local Run Manager (document n° 100000002702)</i>	Fournit des renseignements concernant l'utilisation du logiciel Local Run Manager et les options d'analyse proposées.

Composants de l'instrument

Le système MiniSeq comprend un moniteur tactile, une barre d'état, un compartiment de Flow Cell et un compartiment de réactifs.

Figure 1 Composants de l'instrument

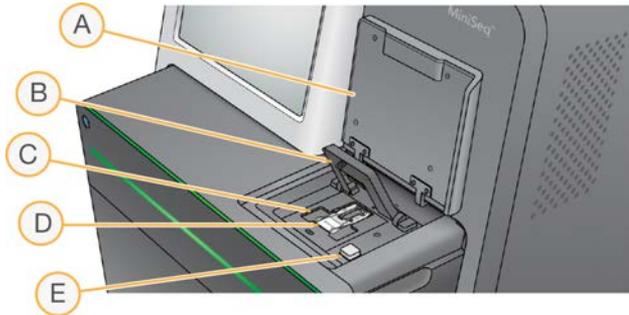


- A **Moniteur tactile** : permet la configuration et le paramétrage sur l'instrument à l'aide de l'interface du logiciel de commande.
- B **Bouton d'alimentation** : allume l'ordinateur intégré à l'instrument et le système d'exploitation.
- C **Ports USB** : connexions pratiques pour les composants périphériques.
- D **Compartiment de Flow Cell** : renferme la Flow Cell durant l'analyse de séquençage.
- E **Barre d'état** : indique si l'instrument est en cours de traitement (bleu), s'il nécessite une attention particulière (orange), s'il est prêt pour le séquençage (vert) ou si un lavage doit être effectué dans les 24 prochaines heures (jaune).
- F **Compartiment de réactifs** : contient la cartouche de réactifs et le flacon de réactifs usagés.

Compartiment de Flow Cell

La platine de Flow Cell comprend le verrou de Flow Cell. Une fois fermé, celui-ci maintient la Flow Cell. Lors de la fermeture du verrou, les broches situées près de la base de ce dernier alignent les ports de la Flow Cell sur les connexions de la fluide.

Figure 2 Compartiment de Flow Cell



- A Porte du compartiment de Flow Cell
- B Verrou de Flow Cell
- C Platine de Flow Cell
- D Flow Cell
- E Bouton de libération du verrou de Flow Cell

La station thermique, située sous la platine de Flow Cell, commande les modifications de température nécessaires à la génération d'amplifiats et au séquençage.



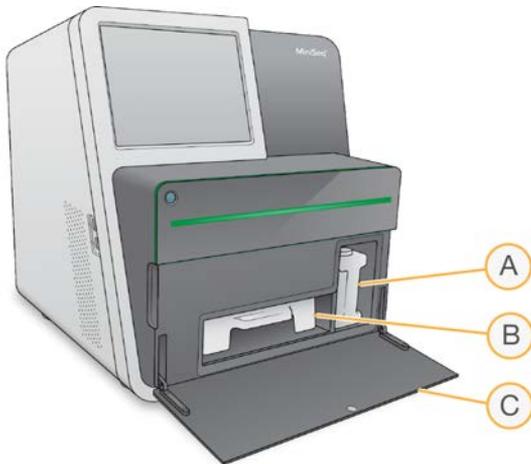
REMARQUE

Ne mettez pas d'objets sur l'instrument près du compartiment de Flow Cell.

Compartiment des réactifs

Le paramétrage d'une analyse de séquençage sur le système MiniSeq nécessite d'accéder au compartiment de réactifs afin de charger les consommables de l'analyse et de vider le flacon de réactifs usagés.

Figure 3 Compartiment des réactifs



- A **Flacon de réactifs usagés** : comprend un capuchon à vis pour éviter les fuites lors du transport.
- B **Cartouche de réactifs** : fournit des réactifs dans un consommable à usage unique prérempli.
- C **Porte du compartiment de réactifs** : permet d'accéder au compartiment de réactifs.

La porte du compartiment de réactifs s'ouvre vers l'extérieur des charnières au bas de l'instrument. Pour ouvrir la porte, tirez-la doucement en la tenant par les côtés.



REMARQUE

Ne placez aucun objet sur la porte du compartiment de réactifs. La porte du compartiment n'est pas conçue pour être utilisée en tant qu'étagère.

Bouton d'alimentation

Le bouton d'alimentation situé sur la partie avant de l'instrument met sous tension l'instrument et l'ordinateur de l'instrument. Il réalise les actions suivantes en fonction de l'état de l'alimentation de l'instrument.

État de l'alimentation	Action
Instrument hors tension	Appuyez brièvement sur le bouton pour mettre l'instrument sous tension.
Instrument sous tension	Appuyez brièvement sur le bouton pour mettre l'instrument hors tension. Une boîte de dialogue s'affiche à l'écran pour confirmer que l'instrument s'est arrêté normalement.
Instrument sous tension	Appuyez et maintenez le bouton d'alimentation enfoncé pendant 10 secondes pour provoquer un arrêt forcé de l'instrument et de l'ordinateur de l'instrument. Utilisez cette méthode pour mettre l'instrument hors tension uniquement si l'instrument ne répond pas.



REMARQUE

Dans des conditions normales, ne mettez pas l'instrument hors tension.

Mettre l'instrument hors tension au cours d'une analyse de séquençage arrête immédiatement celle-ci. L'arrêt d'une analyse est définitif. Les consommables de l'analyse ne peuvent pas être réutilisés et les données de séquençage ne sont pas enregistrées.

Logiciels du système

La suite logicielle de l'instrument comprend des applications intégrées qui exécutent des analyses de séquençage et des analyses sur instrument.

- ▶ **Logiciel MiniSeq Control Software** : le logiciel de commande vous guide tout au long des étapes de configuration d'une analyse de séquençage, commande les opérations de l'instrument et affiche une vue d'ensemble des statistiques de l'analyse à mesure que cette dernière avance.
- ▶ **Logiciel Real-Time Analysis (RTA)** : RTA effectue l'analyse d'images et la définition des bases lors de l'analyse. Consultez la section *Présentation de Real-Time Analysis*, page 44.
- ▶ **Local Run Manager** : avant le séquençage, utilisez Local Run Manager pour préciser les paramètres de l'analyse et la méthode d'analyse. Après le séquençage, l'analyse des données sur instrument se lance automatiquement. Pour obtenir plus de renseignements, consultez le *Guide du logiciel Local Run Manager (document n° 1000000002702)*.

Icônes d'état

Une icône d'état située dans le coin supérieur droit de l'écran d'interface du logiciel de commande indique un changement de situation au cours de la configuration de l'analyse ou au cours de l'analyse.

Icône d'état	Nom de l'état	Description
	Status OK (État OK)	Le système est normal.
	Processing (Traitement)	Le système est en cours de traitement.
	Attention	Le système nécessite l'attention de l'utilisateur.
	Warning (Avertissement)	Un avertissement a eu lieu. Les avertissements n'interrompent pas l'analyse et ne nécessitent pas d'intervention pour la poursuite de l'analyse.
	Error (Erreur)	Une erreur a eu lieu. Les erreurs nécessitent une intervention avant la poursuite de l'analyse.

Lorsqu'un changement de situation se produit, l'icône clignote afin de vous alerter. Sélectionnez l'icône pour afficher une description de la situation. Sélectionnez **Acknowledge** (Accepter) pour accepter le message et **Close** (Fermer) pour fermer la boîte de dialogue.

Présentation des consommables pour le séquençage

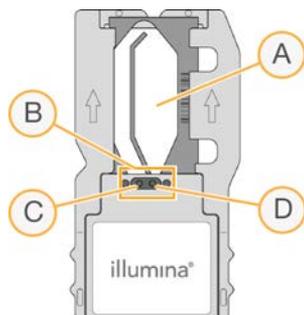
Une trousse MiniSeq à usage unique est nécessaire pour effectuer une analyse de séquençage sur le système MiniSeq. Chaque trousse comporte une Flow Cell ainsi que les réactifs nécessaires à une analyse de séquençage.

La Flow Cell et la cartouche de réactifs utilisent l'identification par radiofréquence (RFID) pour un suivi précis des consommables et pour des questions de compatibilité avec les paramètres d'analyse indiqués.

Flow Cell

La Flow Cell est un substrat de verre qui sert de support à la génération des amplifiats et à la réaction de séquençage. La Flow Cell est enchâssée dans une cartouche de Flow Cell.

Figure 4 Composants de la Flow Cell



- A Zone d'imagerie
- B Joint de Flow Cell
- C Port de sortie
- D Port d'entrée

Les réactifs pénètrent dans la Flow Cell par le port d'entrée, traversent la zone d'imagerie de la ligne unique, puis sont évacués par le port de sortie.

La Flow Cell est livrée sèche dans un tube de Flow Cell, lui-même contenu dans un emballage d'aluminium. Stockez la Flow Cell dans son emballage d'aluminium hermétiquement fermé à une température comprise entre 2 °C et 8 °C avant utilisation. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Préparer la Flow Cell*, page 13.

Présentation de la cartouche de réactifs

La cartouche de réactifs est un consommable à usage unique doté de réservoirs recouverts d'un opercule en aluminium qui sont préremplis de réactifs d'amplification, de séquençage et de lavage.

Figure 5 Cartouche de réactifs



La cartouche de réactifs contient un réservoir prévu pour le chargement des bibliothèques préparées. Après le lancement de l'analyse, les bibliothèques sont transférées automatiquement de la cartouche de réactifs à la Flow Cell.



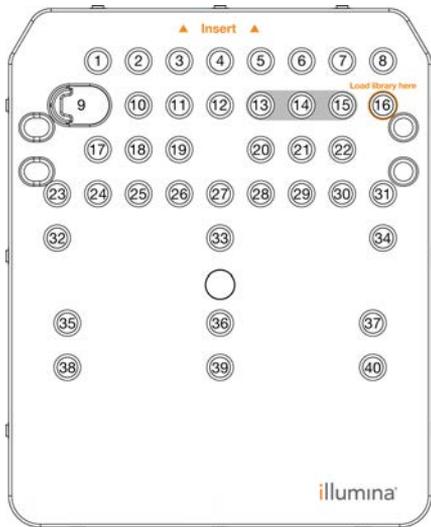
AVERTISSEMENT

Ce groupe de réactifs contient des produits chimiques potentiellement dangereux. Des risques de lésions corporelles peuvent survenir par inhalation, ingestion, contact avec la peau et contact avec les yeux. Portez un équipement de protection, y compris des lunettes, des gants et une blouse de laboratoire, adapté à l'exposition à ces risques. Traitez les réactifs usagés comme des déchets chimiques et éliminez-les conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur. Pour obtenir des renseignements supplémentaires sur l'environnement, la santé et la sécurité, consultez la fiche signalétique sur support.illumina.com/sds.html.

Stockez la cartouche de réactifs à une température entre -25 et -15 °C jusqu'à utilisation. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Préparer la cartouche de réactifs*, page 13.

Réservoirs réservés

Figure 6 Réservoirs numérotés



Position	Description
13, 14 et 15	Réservées aux primers personnalisés facultatifs
16	Charger les librairies

Réservoir amovible en position n° 9

La cartouche de réactifs préremplie comprend un réactif de dénaturation en position n°9 qui contient du formamide. Pour faciliter l'élimination sûre de tout réactif non utilisé après l'analyse de séquençage, ce réservoir est amovible. Pour plus de renseignements, consultez la section *Retirer le réservoir usagé de la position n°9*, page 25.

Bases de données et génomes préinstallés

Dans la majorité des méthodes d'analyse, l'alignement requiert l'utilisation d'une référence. Plusieurs bases de données et génomes de référence sont préinstallés sur l'ordinateur de l'instrument.

Préinstallés	Description
Bases de données	<ul style="list-style-type: none"> • miRbase (humains) • dbSNP (humains) • RefGene (humains)
Génomes	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Arabidopsis thaliana</i> • <i>Bacillus cereus</i> ATCC_10987 • Bovin (<i>Bos taurus</i>) • Souche d'<i>E. coli</i> DH10B • Souche d'<i>E. coli</i> MG1655 • Mouche des fruits (<i>Drosophila melanogaster</i>) • Assemblage humain hg19 (<i>Homo sapiens</i>) • <i>HumanRNAFusion</i> • Souris (<i>Mus musculus</i>) • PhiX • Rat (<i>Rattus norvegicus</i>) • <i>Rhodobacter sphaeroides</i> 2.4.1 • <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 8325 • Levure (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S288C)

Chapitre 2 Pour commencer

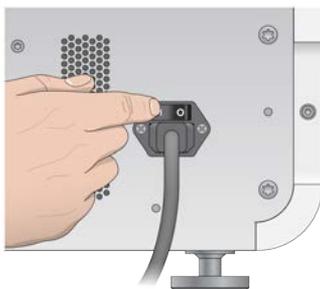
Démarrage de l'instrument	8
Personnaliser les paramètres du système	9
Consommables et équipement fournis par l'utilisateur	11

Démarrage de l'instrument

Assurez-vous que l'installation et l'initialisation de l'instrument ont été correctement effectuées et que sa configuration est terminée. Vous risquez d'endommager le système si vous démarrez l'instrument trop tôt.

- 1 Mettez l'interrupteur principal en position I (Marche).

Figure 7 Interrupteur d'alimentation situé à l'arrière de l'instrument



- 2 Appuyez sur le bouton d'alimentation situé au-dessus du compartiment de réactifs. Le bouton d'alimentation permet d'allumer l'ordinateur intégré à l'instrument et le système d'exploitation.

Figure 8 Bouton d'alimentation situé à l'avant de l'instrument



- 3 Attendez le chargement complet du système d'exploitation. Après l'initialisation, l'écran d'accueil de Windows s'ouvre. Appuyez sur n'importe quelle touche pour ouvrir la fenêtre d'ouverture de session de Windows.
- 4 Connectez-vous au compte Windows de votre choix. Si nécessaire, consultez l'administrateur de votre établissement pour obtenir le nom d'utilisateur et le mot de passe.
- 5 Si un compte utilisateur général est sélectionné, le logiciel de commande MiniSeq démarre et initialise automatiquement le système. Si un compte administrateur est sélectionné, alors il faut lancer le logiciel MiniSeq Control Software en double cliquant sur l'icône MiniSeq System sur le bureau.

Personnaliser les paramètres du système

Le logiciel de commande comporte des paramètres personnalisables pour distinguer l'instrument ainsi que les préférences de flux de travail suivantes :

- ▶ Utilisation du clavier à l'écran pour les étapes de configuration de l'analyse.
- ▶ Élimination des consommables à la fin de l'analyse.
- ▶ Activation des indicateurs sonores.
- ▶ Envoi des données sur la performance de l'instrument à Illumina.
- ▶ Contournement de la confirmation de vérification avant analyse pour lancer automatiquement l'analyse.
- ▶ Vérification automatique des mises à jour logicielles (dans BaseSpace Sequence Hub).
- ▶ Activation des formules personnalisées.

Personnaliser les éléments distinctifs de l'instrument

- 1 Depuis l'écran Manage Instrument (Gérer l'instrument), sélectionnez **System Customization** (Personnalisation du système).
- 2 Pour attribuer un avatar à l'instrument, sélectionnez **Browse** (Parcourir) et naviguez jusqu'à l'image de votre choix.
- 3 Entrez le nom d'instrument de votre choix dans le champ Nick Name (Surnom).
- 4 Sélectionnez **Save** (Enregistrer) pour enregistrer les paramètres et quitter l'écran. L'image et le nom apparaissent dans le coin supérieur gauche de chaque écran.

Configurer l'option d'élimination automatique

- 1 Depuis l'écran Manage Instrument (Gérer l'instrument), sélectionnez **System Customization** (Personnalisation du système).
- 2 Cochez la case **Purge consumables at end of run** (Éliminer les consommables à la fin de l'analyse). Lorsque ce paramètre est activé, les réactifs inutilisés de la cartouche de réactifs sont automatiquement transférés dans le flacon de réactifs usagés après chaque analyse. S'il est désactivé, les réactifs inutilisés restent dans la cartouche de réactifs.



REMARQUE

L'élimination automatique des consommables allonge la durée du flux de travail. Par exemple, l'élimination des réactifs après une analyse de 300 cycles (2 × 151) prend approximativement 50 minutes.

- 3 Sélectionnez **Save** (Enregistrer) pour enregistrer les paramètres et quitter l'écran.

Configurer l'option de lancement automatique

- 1 Depuis l'écran Manage Instrument (Gérer l'instrument), sélectionnez **System Customization** (Personnalisation du système).
- 2 Cochez la case **Skip pre-run check confirmation** (Ignorer la confirmation de vérification avant analyse). Lorsque ce paramètre est activé, l'analyse de séquençage démarre automatiquement une fois la vérification automatique correctement effectuée. S'il est désactivé, vous devez lancer l'analyse manuellement une fois la vérification avant analyse effectuée.
- 3 Sélectionnez **Save** (Enregistrer).

Configurer la vérification automatique des mises à jour logicielles

- 1 Depuis l'écran Manage Instrument (Gérer l'instrument), sélectionnez **System Customization** (Personnalisation du système).
- 2 Cochez la case **Automatically check for software updates** (Vérifier automatiquement les mises à jour logicielles).
Une connexion Internet est nécessaire.
- 3 Sélectionnez **Save** (Enregistrer) pour enregistrer les paramètres et quitter l'écran.

Configurer l'option de clavier à l'écran

- 1 Depuis l'écran Manage Instrument (Gérer l'instrument), sélectionnez **System Customization** (Personnalisation du système).
- 2 Cochez la case **Use on-screen keyboard** (Utiliser le clavier à l'écran).
Ce paramètre active le clavier à l'écran pour la saisie durant les étapes de configuration de l'analyse.
- 3 Sélectionnez **Save** (Enregistrer).

Activer les indicateurs sonores

- 1 Depuis l'écran Manage Instrument (Gérer l'instrument), sélectionnez **System Customization** (Personnalisation du système).
- 2 Cochez la case **Play audio** (Lire les sons) pour activer les indicateurs audio pour les événements suivants :
 - ▶ lors de l'initialisation de l'instrument;
 - ▶ au démarrage d'une analyse;
 - ▶ lorsque des erreurs surviennent;
 - ▶ lorsqu'une interaction avec l'utilisateur est nécessaire;
 - ▶ à la fin d'une analyse.
- 3 Sélectionnez **Save** (Enregistrer).

Send Instrument Performance Data to Illumina (Envoyer les données sur la performance de l'instrument à Illumina)

L'option Send Instrument Performance Data to Illumina (Envoyer les données sur la performance de l'instrument à Illumina) est activée par défaut. Elle permet d'envoyer les données sur la performance de l'instrument hors analyse à un serveur BaseSpace Sequence Hub.

Consommables et équipement fournis par l'utilisateur

Les consommables et l'équipement suivants sont utilisés pour le séquençage et la maintenance du système.

Consommables pour le séquençage

Consommable	Fournisseur	Utilisation
NaOH 1 N (hydroxyde de sodium)	Fournisseur de laboratoire général	Dénaturation de librairie, diluée à 0,1 N
Lingettes d'alcool isopropylique à 70 % ou Éthanol à 70 %	VWR, n° de référence 95041-714 (ou équivalent) Fournisseur de laboratoire général	Nettoyage de la Flow Cell et usage général
Gants jetables sans talc	Fournisseur de laboratoire général	Usage général
Tissu de laboratoire non pelucheux	VWR, n° de référence 21905-026 (ou équivalent)	Nettoyage de la Flow Cell

Consommables pour la maintenance et le dépannage

Consommable	Fournisseur	Utilisation
NaOCl, 5 % (hypochlorite de sodium)	Sigma-Aldrich, n° de référence 239305 (ou produit de catégorie laboratoire équivalent)	Lavage manuel après analyse, dilution à 0,12 %
Tween 20	Sigma-Aldrich, n° de référence P7949	Lavage manuel de l'instrument, dilution à 0,05 %
Eau de laboratoire	Fournisseur de laboratoire général	Lavage manuel de l'instrument

Recommandations à propos de l'eau de laboratoire

Utilisez toujours de l'eau de laboratoire ou de l'eau désionisée pour réaliser des procédures sur l'instrument. N'utilisez jamais d'eau courante. Utilisez exclusivement les eaux qui suivent ou des eaux de qualité équivalente :

- ▶ Eau désionisée
- ▶ PW1 d'Illumina
- ▶ Eau 18 mégohms (M Ω)
- ▶ Eau Milli-Q
- ▶ Eau Super-Q
- ▶ Eau de qualité biologie moléculaire

Équipement

Élément	Source
Congélateur, de -15 °C à -25 °C, sans givre	Fournisseur de laboratoire général
Seau d'eau glacé	Fournisseur de laboratoire général
Réfrigérateur, de 2 °C à 8 °C	Fournisseur de laboratoire général

Chapitre 3 Séquençage

Introduction	12
Préparer les consommables	13
Préparer des bibliothèques pour le séquençage	14
Configurer une analyse de séquençage	14
Surveiller la progression de l'analyse	23
Lavage automatique après analyse	25
Retirer le réservoir usagé de la position n°9	25

Introduction

Pour effectuer une analyse de séquençage sur le système MiniSeq, préparez les consommables d'analyse, puis suivez les invites du logiciel pour configurer l'analyse.

Présentation du flux de travail

Génération d'amplifiats

Lors de la génération d'amplifiats, les molécules d'ADN uniques sont liées à la surface de la Flow Cell, puis subissent une amplification de façon à former des amplifiats.

Séquençage

L'imagerie des amplifiats est réalisée par chimie de séquençage à deux canaux et combinaison de filtres propres à chacun des terminateurs de chaîne marqués par fluorescence. Lorsque l'imagerie d'une plaque sur la Flow Cell est terminée, le système passe à la plaque suivante. Ce processus se répète pour chaque cycle de séquençage. Après l'analyse des images, le logiciel définit les bases, les filtre et leur attribue un score de qualité.

Analyse

Pendant la progression de l'analyse, le logiciel de commande transfère automatiquement les fichiers de définition des bases (BCL) vers l'emplacement de sortie indiqué pour l'analyse des données. Plusieurs méthodes d'analyse existent en fonction de votre application et de la configuration d'analyse sélectionnée pour votre système.

Durée de l'analyse de séquençage

La durée de l'analyse de séquençage dépend du nombre de cycles réalisés. La longueur de lecture maximale est une analyse à lecture appariée de 150 cycles, plus deux lectures d'index de dix cycles chacune au maximum.

Pour connaître les prévisions de durée et autres spécifications du système, consultez la [page des spécifications du système MiniSeq](#) sur le site Web d'Illumina.

Nombre de cycles d'une lecture

Au cours d'une analyse de séquençage, une lecture comprend un cycle de plus que le nombre de cycles analysés. Par exemple, pour réaliser une analyse à lecture appariée de 150 cycles, la configuration de l'analyse doit prévoir 151 cycles par lecture (2×151), soit 302 cycles au total. À la fin de l'analyse, 2×150 cycles sont analysés. Le cycle supplémentaire de chaque lecture est utilisé pour les calculs de mise en phase et de mise en préphase.

Préparer les consommables

Préparer la cartouche de réactifs

- 1 Retirez la cartouche de réactifs de son lieu de stockage entre -25 et -15 °C.
- 2 Décongelez les réactifs à l'aide des options de bain d'eau suivantes. N'immergez pas la cartouche. Lorsqu'elle est décongelée, séchez la base avant de continuer.

Méthode	Durée de décongélation	Période de stabilité
Bain d'eau à 37 °C	35 minutes	Jusqu'à 2 heures
Bain d'eau à température ambiante (de 19 à 25 °C)	90 minutes	Jusqu'à 24 heures

Si plusieurs cartouches sont décongelées dans le même bain d'eau, ajoutez une durée de décongélation supplémentaire.

Sinon, décongelez les réactifs à l'aide des options suivantes.

Méthode	Durée de décongélation	Période de stabilité
Air à température ambiante (de 19 à 25 °C)	5 heures	Jusqu'à 24 heures
Refroidi à une température comprise en 2 et 8 °C	18 heures	Jusqu'à 72 heures

- 3 Retournez la cartouche cinq fois pour mélanger.
- 4 Inspectez les grands réservoirs en regardant par le dessous de la cartouche afin de vous assurer que les réactifs sont décongelés et que les réservoirs ne contiennent pas de cristaux de glace.
- 5 Tapotez doucement sur la paillasse pour réduire les bulles d'air.

Préparer la Flow Cell

- 1 Sortez un nouvel emballage de Flow Cell du lieu de stockage à une température maintenue entre 2 et 8 °C.
- 2 Laissez l'emballage fermé de la Flow Cell à température ambiante pendant 30 minutes.



REMARQUE

Évitez les modifications de température répétées de la Flow Cell.

- 3 Sortez le contenant de la Flow Cell de son emballage d'aluminium.
- 4 Enfilez une nouvelle paire de gants sans talc.
- 5 Tenez la Flow Cell par la cartouche en plastique et retirez-la du contenant.

Figure 9 Retrait de la Flow Cell



- 6 Nettoyez la surface en verre de la Flow Cell à l'aide d'une lingette alcoolisée non pelucheuse.
- 7 Séchez à l'aide d'un chiffon pour nettoyage de lentilles non pelucheux. Séchez avec précaution autour du joint de Flow Cell noir.
- 8 Inspectez les ports de la Flow Cell pour vérifier qu'ils ne sont pas bouchés. Assurez-vous que le joint est bien positionné.

Préparer des bibliothèques pour le séquençage

Dénaturer et diluer des bibliothèques

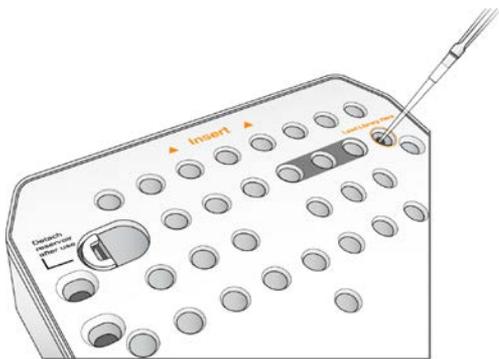
Avant de charger les bibliothèques dans la cartouche de réactifs, dénaturez et diluez les bibliothèques, et ajoutez un contrôle PhiX facultatif. Pour obtenir plus de renseignements, consultez le *Guide de dénaturation et de dilution des bibliothèques pour le système MiniSeq (document n° 1000000002697)*.

Le volume de chargement pour un système MiniSeq est de 500 µl. La concentration de chargement est de 1,4 pM pour des trousseaux standards et de 1,6 pM pour des trousseaux rapides. En pratique, la concentration de chargement peut varier selon les méthodes de préparation et de quantification des bibliothèques.

Chargement des bibliothèques sur la cartouche de réactifs

- 1 Nettoyez l'opercule en aluminium recouvrant le réservoir n° 16 étiqueté **Load Library Here** (Charger la bibliothèque ici) à l'aide d'un tissu non pelucheux.
- 2 Percez l'opercule avec une pointe de pipette propre de 1 ml.
- 3 Ajoutez 500 µl de bibliothèques de 1,4 pM ou 1,6 pM préparées dans le réservoir n° 16. Évitez de toucher l'opercule en aluminium pendant le transfert du produit.

Figure 10 Charger les bibliothèques



Configurer une analyse de séquençage

Les étapes de configuration de l'analyse varient en fonction de la configuration du système :

- ▶ **Standalone configuration** (Configuration autonome) : le système invite les utilisateurs à définir les paramètres de l'analyse sur l'écran Run Setup (Configuration de l'analyse) du logiciel de commande.
- ▶ **Configuration Local Run Manager** : sélectionnez une analyse dans une liste d'analyses prédéfinies dans Local Run Manager. Si User Management (Gestion des utilisateurs) est activé sous System Settings (Paramètres du système), les renseignements d'ouverture de session sont requis. La fonction de gestion des utilisateurs est désactivée par défaut.

Configurer une analyse (Configuration manuelle)

- 1 À l'écran Home (Accueil), sélectionnez **Sequence** (Séquencer).
La commande Sequence (Séquencer) libère les consommables d'une analyse précédente et ouvre la série d'écrans Run Setup (Configuration de l'analyse).
- 2 À l'écran Run Mode (Mode d'analyse), sélectionnez **Manual** (Manuel).
- 3 **Facultatif**—Sélectionnez **Use BaseSpace Sequence Hub** (Utiliser BaseSpace Sequence Hub).
Sélectionnez Run Monitoring and Storage (Surveillance des analyses et stockage) seulement. Lorsque ces réglages sont activés, des identifiants BaseSpace Sequence Hub et une connexion Internet sont nécessaires.

Saisir les paramètres de l'analyse

- 1 Saisissez un nom d'analyse de votre choix.
- 2 **[Facultatif]** Saisissez l'identifiant de librairie de votre choix.
- 3 Sélectionnez un type de lecture, soit **Single Read** (Lecture unique), soit **Paired End** (Lecture appariée).
- 4 Indiquez le nombre de cycles pour chaque lecture de l'analyse de séquençage.
 - ▶ **Read 1** (Lecture 1) : saisissez une valeur dans la limite de 151 cycles.
 - ▶ **Index 1** : saisissez une valeur ne dépassant pas 10 cycles pour le primer d'index 1 (i7).
 - ▶ **Index 2** : saisissez une valeur ne dépassant pas 10 cycles pour le primer d'index 2 (i5).
 - ▶ **Read 2** (Lecture 2) : saisissez une valeur dans la limite de 151 cycles. Cette valeur est généralement identique au nombre de cycles de la lecture 1.

Le logiciel de commande confirme le nombre de cycles spécifiés à l'aide des critères suivants :

- ▶ Le nombre total de cycles ne dépasse pas le nombre maximal de cycles autorisés en fonction de la cartouche de réactifs chargée pour l'analyse.
- ▶ Le nombre de cycles de la lecture 1 est supérieur à 6 (valeur correspondant aux six cycles nécessaires à la génération du modèle).
- ▶ Le nombre de cycles de lecture d'index ne dépasse pas le nombre de cycles de la lecture 1 et de la lecture 2.



REMARQUE

Assurez-vous d'indiquer le nombre approprié de cycles de lecture d'index pour les librairies séquencées. Pour plus de renseignements, consultez les documents relatifs à la préparation de librairie.

- 5 **[Facultatif]** Si vous utilisez des primers personnalisés, cochez la case correspondant aux primers utilisés.
 - ▶ **Read 1** (Lecture 1) : primer personnalisé pour la lecture 1.
 - ▶ **Index 1** : primer personnalisé pour l'index 1.
 - ▶ **Index 2** : primer personnalisé pour l'index 2.
 - ▶ **Read 2** (Lecture 2) : primer personnalisé pour la lecture 2.
- 6 **[Facultatif]** Modifiez les paramètres de l'analyse en cours.
 - ▶ **Purge consumables for this run** (Éliminer les consommables pour cette analyse) : modifier ce paramètre pour que les consommables soient automatiquement éliminés après l'analyse en cours.
 - ▶ **Output folder** (Dossier de sortie) : changer l'emplacement du dossier de sortie pour l'analyse en cours. Sélectionnez **Browse** (Parcourir) pour sélectionner un emplacement de dossier.
- 7 Sélectionnez **Next** (Suivant).



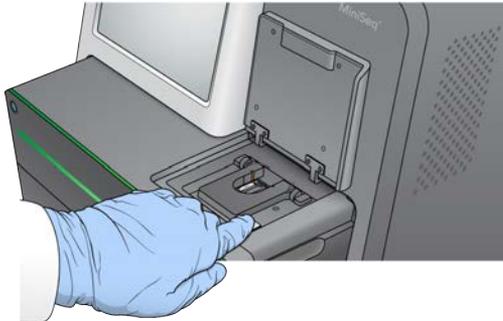
REMARQUE

N'ouvrez pas la porte du compartiment de réactifs ou la porte du compartiment de Flow Cell pendant la vérification automatique ou pendant l'analyse de séquençage.

Chargement de la Flow Cell

- 1 Ouvrez la porte du compartiment de Flow Cell.
- 2 Appuyez sur le bouton de libération à droite du verrou de Flow Cell.

Figure 11 Déverrouillage de la Flow Cell



- 3 Retirez la Flow Cell usagée provenant de l'analyse précédente si elle est présente.
- 4 Assurez-vous que la platine de Flow Cell est propre. Si des débris sont présents sur la platine de Flow Cell, éliminez-les avec une lingette alcoolisée.
- 5 Placez la Flow Cell sur la platine de Flow Cell au-dessus des broches d'alignement.

Figure 12 Installation de la Flow Cell sur la platine



- 6 Fermez le verrou de Flow Cell pour fixer la Flow Cell.

Figure 13 Verrouillage de la Flow Cell



- 7 Fermez la porte du compartiment de la Flow Cell.

Charger la cartouche de réactifs

- 1 Ouvrez la porte du compartiment des réactifs.
- 2 Retirez la cartouche de réactifs usagée si elle est présente.

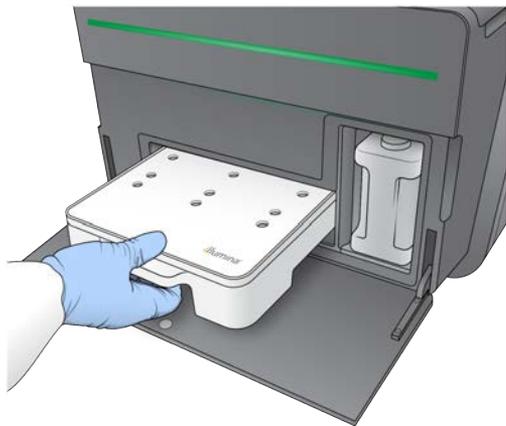


REMARQUE

Le réservoir à la position n°9 est amovible pour faciliter la mise au rebut en toute sécurité des réactifs inutilisés contenant du formamide. Consultez la section *Retirer le réservoir usagé de la position n°9*, page 25.

- 3 Faites glisser la cartouche de réactifs dans le compartiment de réactifs jusqu'à butée.

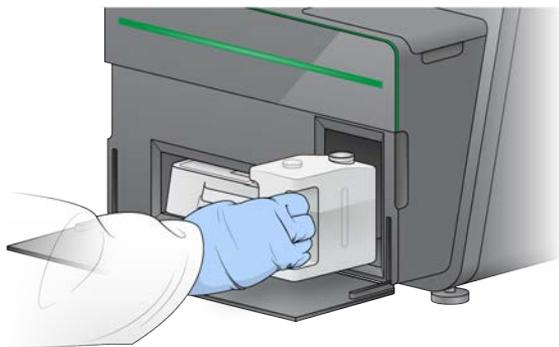
Figure 14 Charger la cartouche de réactifs



Vider le flacon de réactifs usagés

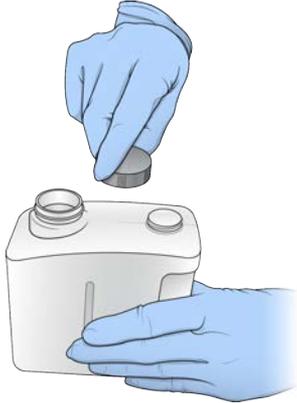
- 1 Retirez le flacon de réactifs usagés du compartiment.

Figure 15 Retirer le flacon de réactifs usagés



- 2 Fermez hermétiquement le flacon à l'aide du bouchon fileté pour éviter de répandre les réactifs usagés lors du transport du flacon de réactifs.

Figure 16 Fermer hermétiquement le flacon de réactifs usagés



- 3 Jetez le contenu conformément aux normes en vigueur.



AVERTISSEMENT

Ce groupe de réactifs contient des produits chimiques potentiellement dangereux. Des risques de lésions corporelles peuvent survenir par inhalation, ingestion, contact avec la peau et contact avec les yeux. Portez un équipement de protection, y compris des lunettes, des gants et une blouse de laboratoire, adapté à l'exposition à ces risques. Traitez les réactifs usagés comme des déchets chimiques et éliminez-les conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur. Pour obtenir des renseignements supplémentaires sur l'environnement, la santé et la sécurité, consultez la fiche signalétique sur support.illumina.com/sds.html.

- 4 Retirez le bouchon fileté, puis faites glisser le flacon de réactifs usagés vide dans le compartiment jusqu'à la butée.
- 5 Fermez la porte du compartiment et sélectionnez **Next** (Suivant).

Confirmer les paramètres de l'analyse

- 1 Confirmez les paramètres de l'analyse.

Le logiciel de commande confirme le nombre de cycles spécifiés à l'aide des critères suivants :

- ▶ Le nombre total de cycles ne dépasse pas le nombre maximal de cycles autorisés en fonction de la cartouche de réactifs chargée pour l'analyse.
- ▶ Le nombre de cycles de la lecture 1 est supérieur à 6 (valeur correspondant aux six cycles nécessaires à la génération du modèle).
- ▶ Le nombre de cycles de lecture d'index ne dépasse pas le nombre de cycles de la lecture 1 et de la lecture 2.



REMARQUE

Assurez-vous d'indiquer le nombre approprié de cycles de lecture d'index pour les bibliothèques séquencées. Pour plus de renseignements, consultez les documents relatifs à la préparation de bibliothèque.

- 2 **[Facultatif]** Sélectionnez **Edit** (Modifier) pour modifier les paramètres de l'analyse. Lorsque vous avez terminé, sélectionnez **Save** (Enregistrer).
 - ▶ **Run parameters** (Paramètres de l'analyse) : modifiez le type de lecture ou le nombre de cycles par lecture.
 - ▶ **Custom primers** (Primers personnalisés) : modifiez les réglages des primers personnalisés.
- 3 Sélectionnez **Next** (Suivant).

**REMARQUE**

N'ouvrez pas la porte du compartiment de réactifs ou la porte du compartiment de Flow Cell pendant la vérification automatique ou pendant l'analyse de séquençage.

Vérification avant analyse

- 1 Passez en revue les résultats de la vérification automatique.
 - ▶ Pour arrêter une vérification en cours, sélectionnez **Cancel** (Annuler).
 - ▶ Pour tous les éléments qui n'ont pas réussi la vérification, une action est nécessaire avant que vous puissiez continuer. Consultez la section *Erreurs de la vérification automatique*, page 35.
 - ▶ Pour redémarrer la vérification, sélectionnez **Retry** (Réessayer). La vérification reprend à la première vérification incomplète ou non conforme.
- 2 Pour démarrer l'analyse, sélectionnez une option parmi les suivantes.
 - ▶ Si le système n'est pas configuré pour démarrer automatiquement après une vérification réussie, sélectionnez **Start** (Démarrer).
 - ▶ Si le système est configuré pour démarrer automatiquement après une analyse réussie, l'analyse de séquençage démarre automatiquement. Votre présence n'est pas nécessaire. Toutefois, si une erreur se produit au cours de la vérification, l'analyse ne démarre pas automatiquement.

Configurer une analyse (configuration Local Run Manager)

- 1 À l'écran Home (Accueil), sélectionnez **Sequence** (Séquencer).
La commande Sequence (Séquencer) libère les consommables d'une analyse précédente et ouvre la série d'écrans Run Setup (Configuration de l'analyse).
- 2 À l'écran Run Setup (Configuration de l'analyse), sélectionnez **Local Run Manager**.
- 3 **Facultatif**—Sélectionnez **Use BaseSpace Sequence Hub** (Utiliser BaseSpace Sequence Hub).
Sélectionnez Run Monitoring and Storage (Surveillance des analyses et stockage) seulement. Lorsque ces réglages sont activés, des identifiants BaseSpace et une connexion Internet sont nécessaires.

Ouvrir une session dans Local Run Manager

- 1 Saisissez votre nom d'utilisateur et votre mot de passe.
Il n'est pas nécessaire d'utiliser d'identifiants d'ouverture de session lorsque la fonction de gestion des utilisateurs de Local Run Manager est désactivée.
- 2 Sélectionnez **Next** (Suivant).

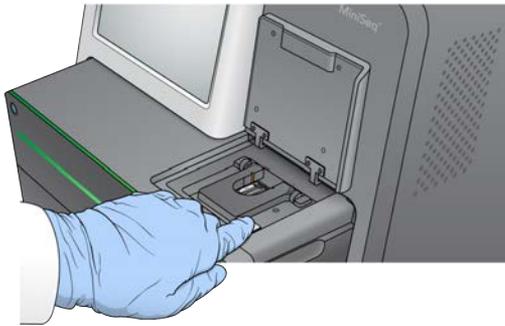
Sélectionner End Run (Arrêter l'analyse)

- 1 Sélectionnez le nom d'une analyse dans la liste des analyses disponibles.
Utilisez les flèches haut et bas pour faire défiler la liste ou saisissez le nom d'une analyse dans le champ de recherche.
- 2 Sélectionnez **Next** (Suivant).

Chargement de la Flow Cell

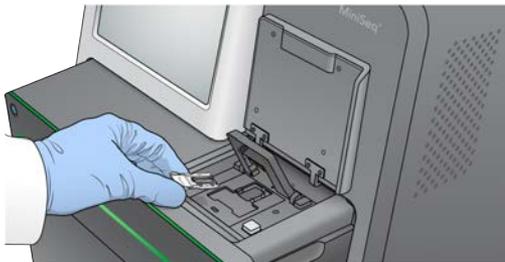
- 1 Ouvrez la porte du compartiment de Flow Cell.
- 2 Appuyez sur le bouton de libération à droite du verrou de Flow Cell.

Figure 17 Déverrouillage de la Flow Cell



- 3 Retirez la Flow Cell usagée provenant de l'analyse précédente si elle est présente.
- 4 Assurez-vous que la platine de Flow Cell est propre. Si des débris sont présents sur la platine de Flow Cell, éliminez-les avec une lingette alcoolisée.
- 5 Placez la Flow Cell sur la platine de Flow Cell au-dessus des broches d'alignement.

Figure 18 Installation de la Flow Cell sur la platine



- 6 Fermez le verrou de Flow Cell pour fixer la Flow Cell.

Figure 19 Verrouillage de la Flow Cell



- 7 Fermez la porte du compartiment de la Flow Cell.

Charger la cartouche de réactifs

- 1 Ouvrez la porte du compartiment des réactifs.
- 2 Retirez la cartouche de réactifs usagée si elle est présente.

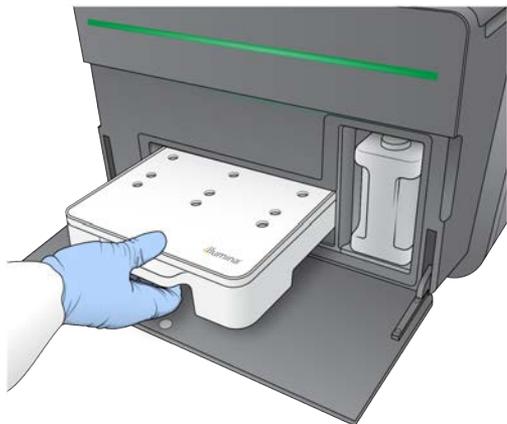


REMARQUE

Le réservoir à la position n°9 est amovible pour faciliter la mise au rebut en toute sécurité des réactifs inutilisés contenant du formamide. Consultez la section *Retirer le réservoir usagé de la position n°9*, page 25.

- 3 Faites glisser la cartouche de réactifs dans le compartiment de réactifs jusqu'à butée.

Figure 20 Charger la cartouche de réactifs

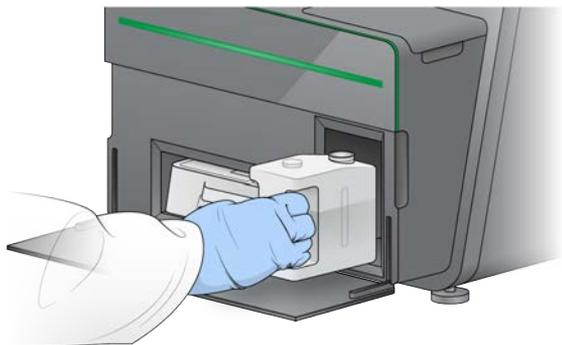


- 4 Sélectionnez une formule dans la liste déroulante Recipe (Formule). Seules les formules compatibles sont répertoriées.

Vider le flacon de réactifs usagés

- 1 Retirez le flacon de réactifs usagés du compartiment.

Figure 21 Retirer le flacon de réactifs usagés



- 2 Fermez hermétiquement le flacon à l'aide du bouchon fileté pour éviter de répandre les réactifs usagés lors du transport du flacon de réactifs.

Figure 22 Fermer hermétiquement le flacon de réactifs usagés



- 3 Jetez le contenu conformément aux normes en vigueur.



AVERTISSEMENT

Ce groupe de réactifs contient des produits chimiques potentiellement dangereux. Des risques de lésions corporelles peuvent survenir par inhalation, ingestion, contact avec la peau et contact avec les yeux. Portez un équipement de protection, y compris des lunettes, des gants et une blouse de laboratoire, adapté à l'exposition à ces risques. Traitez les réactifs usagés comme des déchets chimiques et éliminez-les conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur. Pour obtenir des renseignements supplémentaires sur l'environnement, la santé et la sécurité, consultez la fiche signalétique sur support.illumina.com/sds.html.

- 4 Retirez le bouchon fileté, puis faites glisser le flacon de réactifs usagés vide dans le compartiment jusqu'à la butée.
- 5 Fermez la porte du compartiment et sélectionnez **Next** (Suivant).

Confirmer les paramètres de l'analyse

- 1 Confirmez les paramètres de l'analyse.

Le logiciel de commande confirme le nombre de cycles spécifiés à l'aide des critères suivants :

- ▶ Le nombre total de cycles ne dépasse pas le nombre maximal de cycles autorisés en fonction de la cartouche de réactifs chargée pour l'analyse.
- ▶ Le nombre de cycles de la lecture 1 est supérieur à 6 (valeur correspondant aux six cycles nécessaires à la génération du modèle).
- ▶ Le nombre de cycles de lecture d'index ne dépasse pas le nombre de cycles de la lecture 1 et de la lecture 2.



REMARQUE

Assurez-vous d'indiquer le nombre approprié de cycles de lecture d'index pour les bibliothèques séquencées. Pour plus de renseignements, consultez les documents relatifs à la préparation de bibliothèque.

- 2 **[Facultatif]** Sélectionnez **Edit** (Modifier) pour modifier les paramètres de l'analyse. Lorsque vous avez terminé, sélectionnez **Save** (Enregistrer).
 - ▶ **Run parameters** (Paramètres de l'analyse) : modifiez le type de lecture ou le nombre de cycles par lecture.
 - ▶ **Custom primers** (Primers personnalisés) : modifiez les réglages des primers personnalisés.
- 3 Sélectionnez **Next** (Suivant).



REMARQUE

N'ouvrez pas la porte du compartiment de réactifs ou la porte du compartiment de Flow Cell pendant la vérification automatique ou pendant l'analyse de séquençage.

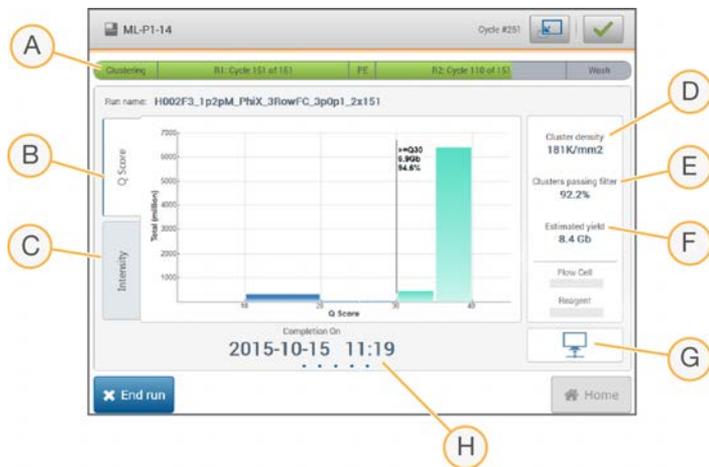
Vérification avant analyse

- 1 Passez en revue les résultats de la vérification automatique.
 - ▶ Pour arrêter une vérification en cours, sélectionnez **Cancel** (Annuler).
 - ▶ Pour tous les éléments qui n'ont pas réussi la vérification, une action est nécessaire avant que vous puissiez continuer. Consultez la section *Erreurs de la vérification automatique*, page 35.
 - ▶ Pour redémarrer la vérification, sélectionnez **Retry** (Réessayer). La vérification reprend à la première vérification incomplète ou non conforme.
- 2 Pour démarrer l'analyse, sélectionnez une option parmi les suivantes.
 - ▶ Si le système n'est pas configuré pour démarrer automatiquement après une vérification réussie, sélectionnez **Start** (Démarrer).
 - ▶ Si le système est configuré pour démarrer automatiquement après une analyse réussie, l'analyse de séquençage démarre automatiquement. Votre présence n'est pas nécessaire. Toutefois, si une erreur se produit au cours de la vérification, l'analyse ne démarre pas automatiquement.

Surveiller la progression de l'analyse

- 1 Surveillez la progression, les intensités et les scores de qualité de l'analyse à mesure que les indicateurs s'affichent à l'écran.

Figure 23 Progression et indicateurs de l'analyse de séquençage



- A **Run progress** (Progression de l'analyse) : indique l'étape en cours et le nombre de cycles réalisés pour chaque lecture. La barre de progression n'est pas proportionnelle à la durée d'analyse de chaque étape.
- B **Q-Score** (Score de qualité) : indique la répartition des scores de qualité (Q-scores). Consultez la section *Notation de la qualité*, page 47.
- C **Intensity** (Intensité) : indique la valeur des intensités d'amplifiats du 90^e percentile pour chaque plaque. Les couleurs du diagramme indiquent chaque base : le rouge représente A, le vert représente C, le bleu représente G et le noir représente T.

- D **Cluster Density (K/mm²)** (Densité des amplifiats [K/mm²]) : indique le nombre d'amplifiats détectés pour l'analyse.
- E **Clusters Passing Filter (%)** (Amplifiats passant le filtre [%]) : indique le pourcentage d'amplifiats passant le filtre. Consultez la section *Amplifiats passant le filtre*, page 47.
- F **Estimated Yield (Gb)** (Estimation de rendement [Gb]) : indique le nombre de bases prévues pour l'analyse.
- G **État du transfert de données** : indique l'état du transfert de données en fonction de la configuration de l'analyse.
- H **Fin de l'analyse** : indique la date et l'heure de fin de l'analyse (au format aaaa-mm-jj et hh:mm).



REMARQUE

Après avoir sélectionné Home (Accueil), il est impossible de revenir en arrière pour afficher les indicateurs de l'analyse. Toutefois, il est possible d'accéder aux indicateurs de l'analyse sur BaseSpace à partir d'un ordinateur mis en réseau et utilisant Sequencing Analysis Viewer ou à partir d'un ordinateur mis en réseau utilisant Local Run Manager.

Cycles des indicateurs de l'analyse

Les indicateurs de l'analyse apparaissent à différents moments au cours de l'analyse.

- ▶ Aucun indicateur ne s'affiche au cours des étapes de génération d'amplifiats.
- ▶ Les cinq premiers cycles sont réservés à la génération du modèle.
- ▶ Au sixième cycle, la densité brute des amplifiats et les intensités du premier cycle s'affichent.
- ▶ Après le vingt-cinquième cycle, la proportion d'amplifiats passant le filtre, le rendement et les scores de qualité s'affichent.

État du transfert des données

Selon la configuration d'analyse sélectionnée, une icône apparaît sur l'écran pendant l'analyse pour indiquer l'état de la connexion.

État	BaseSpace	Local Run Manager	Autonome
Connecté			
Transfert de données en cours			
Déconnecté			
Désactivé			

Il se peut que plusieurs icônes apparaissent à l'écran. Par exemple, si des données d'analyse sont en cours de transfert dans BaseSpace et dans un dossier de sortie supplémentaire, une icône BaseSpace et une icône Autonome apparaissent.

Universal Copy Service

La suite logicielle du système MiniSeq comporte Universal Copy Service. À mesure que RTA génère des fichiers, le service les copie dans l'emplacement du dossier de sortie indiqué.

Si le transfert des données est interrompu en cours d'analyse, les données sont stockées temporairement sur l'ordinateur de l'instrument. Lorsque la connexion est rétablie, le transfert des données reprend automatiquement durant l'analyse. Si la connexion ne se rétablit pas avant la fin de l'analyse, déplacez manuellement les données vers l'emplacement choisi.

Transfert des données dans BaseSpace

Universal Copy Service transfère les données d'analyse à BaseSpace. Les données sont transférées en continu de Universal Copy Service à BaseSpace.

Si vous indiquez un emplacement supplémentaire pour les données de l'analyse, les données sont transférées à cet emplacement, quel que soit l'état de Universal Copy Service.

Lavage automatique après analyse

Une fois l'analyse de séquençage terminée, le logiciel lance un lavage automatique après analyse à l'aide de la solution de lavage et du NaOCl contenu dans la cartouche de réactifs.

Le lavage automatique après analyse prend environ 60 minutes. Une fois le lavage terminé, le bouton Home (Accueil) redevient actif. Les résultats du séquençage restent visibles à l'écran pendant le lavage.

Après le lavage

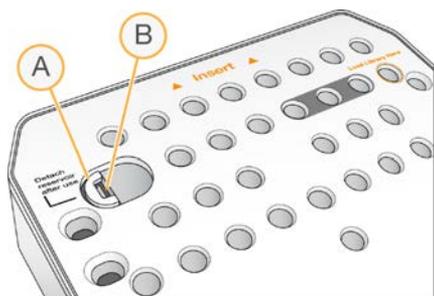
Après le lavage, laissez les dispositifs d'aspiration en position basse afin d'empêcher l'air d'entrer dans le système. Laissez la cartouche en place jusqu'à l'analyse suivante.

Retirer le réservoir usagé de la position n° 9

Le réservoir de la position n°9 de la cartouche de réactifs contient du formamide. Avant la mise au rebut de la cartouche de réactifs usagés, vous pouvez retirer le réservoir de la position n°9 pour le mettre au rebut séparément.

- 1 Mettez des gants, appuyez sur l'onglet de séparation blanc à la position n°9 pour briser les trois points de rattachement.

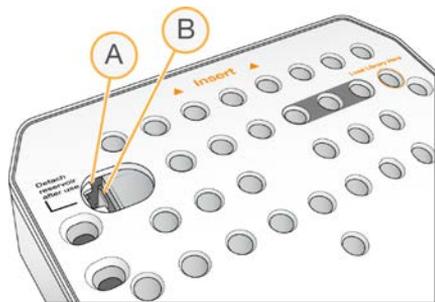
Figure 24 Onglet de séparation à la position n° 9



- A Onglet de séparation intact
- B Attache du réservoir

- 2 Faites glisser l'onglet de séparation vers le bord gauche de la cartouche, de façon à ce qu'il glisse sous le couvercle de la cartouche.

Figure 25 Onglet de séparation retiré, attache du réservoir exposée



- A Onglet de séparation sous le couvercle de la cartouche
- B Attache du réservoir

- 3 Appuyez sur l'attache du réservoir en plastique transparent vers les bas, puis vers la droite. Le réservoir est dégagé de son emplacement sous la cartouche de réactifs.
- 4 Mettez le réservoir au rebut conformément aux normes de sécurité en vigueur.



AVERTISSEMENT

Ce groupe de réactifs contient des produits chimiques potentiellement dangereux. Des risques de lésions corporelles peuvent survenir par inhalation, ingestion, contact avec la peau et contact avec les yeux. Portez un équipement de protection, y compris des lunettes, des gants et une blouse de laboratoire, adapté à l'exposition à ces risques. Traitez les réactifs usagés comme des déchets chimiques et éliminez-les conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur. Pour obtenir des renseignements supplémentaires sur l'environnement, la santé et la sécurité, consultez la fiche signalétique sur support.illumina.com/sds.html.

Chapitre 4 Maintenance

Introduction	28
Effectuer un lavage manuel de l'instrument	28
Mises à jour logicielles	31

Introduction

Les procédures de maintenance comprennent des lavages manuels de l'instrument ainsi que les éventuelles mises à jour des logiciels du système. Aucune autre procédure de maintenance périodique n'est nécessaire.

- ▶ **Lavages de l'instrument** : un lavage automatique après chaque analyse de séquençage permet d'optimiser les performances de l'instrument. Cependant, un lavage manuel est exigé dans certaines situations. Consultez la section *Effectuer un lavage manuel de l'instrument*, page 28.
- ▶ **Mises à jour logicielles** : quand une nouvelle version de la suite logicielle du système est disponible, vous pouvez l'installer automatiquement en vous connectant à BaseSpace ou manuellement en téléchargeant le programme d'installation sur le site Web d'Illumina. Consultez la section *Mises à jour logicielles*, page 31.

Maintenance préventive

Illumina vous recommande de planifier un service de maintenance préventive chaque année. Si vous n'êtes pas lié par un contrat de services, communiquez avec le gestionnaire de compte commercial de votre zone ou avec l'assistance technique d'Illumina pour organiser un service de maintenance préventive facturable.

Effectuer un lavage manuel de l'instrument

Les options de lavage manuel de l'instrument comprennent Quick Wash (Lavage rapide) et Manual Post-Run Wash (Lavage manuel après analyse).

Types de lavage	Description
Quick Wash (Lavage rapide) Durée : 20 minutes	Il est nécessaire d'effectuer un lavage rapide de l'instrument après l'avoir arrêté ou tous les sept jours s'il n'a pas été utilisé pendant cette période. Le lavage permet de rincer le système avec une solution de lavage fournie par l'utilisateur composée d'eau de laboratoire et de Tween 20.
Manual Post-Run Wash (Lavage manuel après analyse) Durée : 90 minutes	Dans les cas où le lavage automatique après analyse n'a pas été effectué (si, par exemple, une analyse est arrêtée prématurément et que la Flow Cell est conservée pour une réhybridation ultérieure), un lavage manuel après analyse est requis. Le lavage permet de rincer le système avec de l'hypochlorite de sodium à 0,12 % fourni par l'utilisateur et une solution de lavage composée d'eau de laboratoire et de Tween 20.



REMARQUE

Utilisez toujours une nouvelle dilution de NaOCl préparée au cours des **24 dernières heures**. Si vous préparez un volume supérieur à 1 ml, stockez la dilution restante entre 2 et 8 °C pour une utilisation dans les 24 heures suivantes. Sinon, jetez la dilution de NaOCl restante.

Un lavage manuel de l'instrument nécessite la cartouche de lavage et une Flow Cell de lavage fournie avec l'instrument. Vous pouvez également utiliser une Flow Cell usagée pour le lavage.

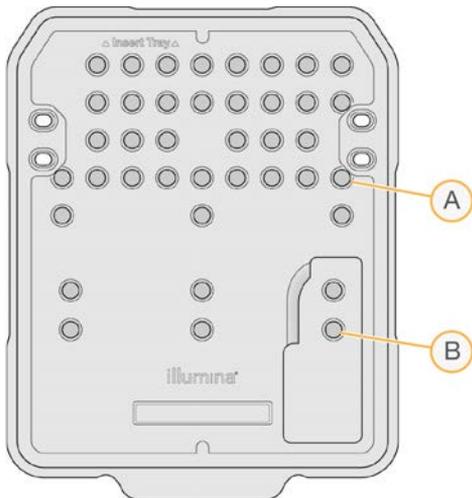
Figure 26 Cartouche de lavage



Préparer un lavage manuel après analyse

- 1 Combinez les volumes suivants pour obtenir du NaOCl à 0,12 %.
 - ▶ NaOCl à 5 % (31 µl)
 - ▶ Eau de laboratoire (1 269 µl)
- 2 Ajoutez 1,3 ml de NaOCl à 0,12 % à la cartouche de lavage.
Le réservoir approprié correspond à la position n°31 de la cartouche de réactifs préremplie.

Figure 27 Emplacements pour le NaOCl et la solution de lavage



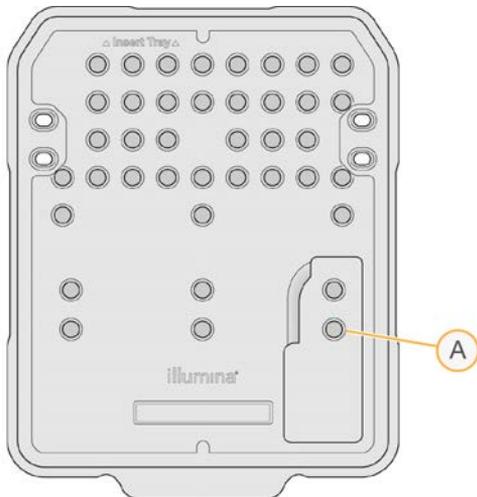
- A NaOCl à 0,12 %
- B Solution de lavage

- 3 Combinez les volumes suivants pour obtenir une solution de lavage Tween 20 à 0,05 %.
 - ▶ Tween 20 à 100 % (40 µl)
 - ▶ Eau de laboratoire (80 ml)
- 4 Versez 80 ml de solution de lavage dans la cartouche de lavage.
Le réservoir approprié correspond à la position n°40 de la cartouche de réactifs préremplie.
- 5 Sur l'écran Home (Accueil), sélectionnez **Perform Wash** (Procéder au lavage), puis **Manual post-run wash** (Lavage manuel après analyse).

Préparer un lavage rapide

- 1 Combinez les volumes suivants pour obtenir une solution de lavage Tween 20 à 0,05 %.
 - ▶ Tween 20 à 100 % (20 µl)
 - ▶ Eau de laboratoire (40 ml)
- 2 Versez 40 ml de solution de lavage dans la cartouche de lavage.
Le réservoir approprié correspond à la position n° 40 de la cartouche de réactifs préremplie.

Figure 28 Emplacement pour la solution de lavage



A Solution de lavage

- 3 Sur l'écran Home (Accueil), sélectionnez **Perform Wash** (Procéder au lavage), puis **Quick wash** (Lavage rapide).

Charger la Flow Cell de lavage et la cartouche de lavage

- 1 Chargez la Flow Cell de lavage. Fermez la pince de Flow Cell et la porte de Flow Cell.



REMARQUE

Vous pouvez également charger une Flow Cell usagée.

- 2 Retirez la cartouche de réactifs usagée de la précédente analyse, le cas échéant.
- 3 Chargez la cartouche de lavage préparée.
- 4 Retirez le flacon de réactifs usagés et jetez le contenu conformément aux normes applicables.



AVERTISSEMENT

Ce groupe de réactifs contient des produits chimiques potentiellement dangereux. Des risques de lésions corporelles peuvent survenir par inhalation, ingestion, contact avec la peau et contact avec les yeux. Portez un équipement de protection, y compris des lunettes, des gants et une blouse de laboratoire, adapté à l'exposition à ces risques. Traitez les réactifs usagés comme des déchets chimiques et éliminez-les conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur. Pour obtenir des renseignements supplémentaires sur l'environnement, la santé et la sécurité, consultez la fiche signalétique sur support.illumina.com/sds.html.

- 5 Faites glisser le flacon de réactifs usagés vide dans le compartiment jusqu'à la butée.
- 6 Fermez la porte du compartiment des réactifs.
- 7 Sélectionnez **Next** (Suivant).

Démarrer le lavage

- 1 Une fois la vérification terminée, sélectionnez **Start** (Démarrer).
- 2 Une fois le lavage terminé, sélectionnez **Home** (Accueil).

Après le lavage

Après le lavage, laissez les dispositifs d'aspiration en position basse afin d'empêcher l'air d'entrer dans le système. Laissez la cartouche en place jusqu'à l'analyse suivante.

Mises à jour logicielles

Les mises à jour logicielles font partie d'une suite logicielle appelée System Suite, qui comprend les logiciels suivants :

- ▶ Logiciel de commande MiniSeq
- ▶ Formules MiniSeq
- ▶ RTA2
- ▶ Local Run Manager
- ▶ MiniSeq Service Software
- ▶ Universal Copy Service

Les notes de mise à jour logicielles sont accessibles sur la page d'assistance du système MiniSeq dans le site Web d'Illumina.

Vous pouvez installer des mises à jour logicielles automatiquement si vous disposez d'une connexion Internet ou manuellement à partir d'un emplacement réseau ou USB.

- ▶ **Mises à jour automatiques** : si l'instrument est connecté à un réseau doté d'un accès à Internet, une icône d'alerte  s'affiche sur le bouton Manage Instrument (Gérer l'instrument) situé à l'écran d'accueil lorsqu'une mise à jour est disponible.
- ▶ **Mises à jour manuelles** : téléchargez le programme d'installation System Suite à la [page d'assistance du système MiniSeq](#), sur le site Web d'Illumina.



REMARQUE

L'annulation d'une mise à jour avant la fin de l'installation interrompt la mise à jour au point atteint de l'installation. Les modifications effectuées jusqu'au moment de l'annulation ne sont pas désinstallées ou rapportées à la version antérieure.

Mise à jour automatique des logiciels

- 1 Sélectionnez **Manage Instrument** (Gérer l'instrument).
- 2 Sélectionnez **Software Update** (Mise à jour logicielle).
- 3 Sélectionnez **Install the update already downloaded from BaseSpace** (Installer la mise à jour déjà téléchargée à partir de BaseSpace).

- 4 Sélectionnez **Update** (Mise à jour) pour commencer la mise à jour. Une boîte de dialogue apparaît pour la confirmation de la commande.
- 5 Suivez les invites de l'assistant d'installation :
 - a Acceptez l'accord de licence.
 - b Consultez la liste des logiciels inclus dans la mise à jour.

Le logiciel de commande redémarre automatiquement une fois la mise à jour logicielle effectuée.



REMARQUE

Un redémarrage automatique du système est nécessaire après toute mise à jour du micrologiciel.

Mise à jour manuelle des logiciels

- 1 Téléchargez le programme d'installation System Suite sur le site Web d'Illumina et enregistrez-le dans un emplacement réseau sur liste blanche. Illumina recommande D:\Illumina ou C:\Illumina. Vous pouvez également copier le fichier d'installation des logiciels sur une clé USB.
- 2 Sélectionnez **Manage Instrument** (Gérer l'instrument).
- 3 Sélectionnez **Software Update** (Mise à jour logicielle).
- 4 Sélectionnez **Manually install the update from the following location** (Installer manuellement la mise à jour à partir de l'emplacement suivant).
- 5 Sélectionnez **Browse** (Parcourir) pour accéder à l'emplacement du fichier d'installation du logiciel, puis sélectionnez **Update** (Mettre à jour).
- 6 Suivez les invites de l'assistant d'installation :
 - a Acceptez l'accord de licence.
 - b Consultez la liste des logiciels inclus dans la mise à jour.

Le logiciel de commande redémarre automatiquement une fois la mise à jour logicielle effectuée.



REMARQUE

Un redémarrage automatique du système est nécessaire après toute mise à jour du micrologiciel.

Exigences logicielles pour la trousse rapide

L'utilisation de trousse rapide avec le système MiniSeq nécessite le logiciel MiniSeq Control Software v2.1 ou une version ultérieure. Un administrateur doit effectuer la mise à jour de la version v2.0 à la version v2.1. Windows 10 est nécessaire pour l'installation du logiciel MiniSeq Control Software v2.0 ou d'une version ultérieure.

Annexe A Dépannage

Fichiers de dépannage	34
Erreurs de la vérification automatique	35
Erreurs RTA	37
Flux de travail de réhybridation	37
Vérification du système	39
Paramètres de configuration du réseau	41
Génomomes personnalisés	42
Arrêt de l'instrument	43

Fichiers de dépannage

Fichier clé	Dossier	Description
Fichier de renseignements sur l'analyse (RunInfo.xml)	Dossier racine	Comprend les renseignements suivants : <ul style="list-style-type: none">• Nom de l'analyse• Nombre de cycles de l'analyse• Nombre de cycles dans chaque lecture• Lecture indexée ou non• Nombre de témoins et de plaques sur la Flow Cell
Fichier des paramètres de l'analyse (RunParameters.xml)	Dossier racine	Contient des renseignements concernant les paramètres et les composants des analyses. Parmi les renseignements figurent le RFID, le numéro de série, le numéro de lot et la date de péremption.
Fichiers de configuration RTA (RTAConfiguration.xml)	Data\Intensities	Comprend les paramètres de configuration RTA pour l'analyse. Le fichier RTAConfiguration.xml est créé au début de l'analyse.
Fichiers InterOp (*.bin)	InterOp	Les fichiers binaires sont utilisés pour le logiciel Sequencing Analysis Viewer. Les fichiers InterOp sont mis à jour tout au long de l'analyse.
Fichiers journaux	Journaux	Les fichiers journaux décrivent chaque étape effectuée par l'instrument au cours de chaque cycle et répertorient les versions de logiciels et de progiciels utilisées lors de l'analyse. Le fichier nommé [NomInstrument]_CurrentHardware.csv répertorie les numéros de série des composants de l'instrument.
Fichiers journaux des erreurs (*ErrorLog*.txt)	Journaux RTA	Journal des erreurs RTA. Les fichiers journaux des erreurs sont mis à jour à chaque fois qu'une erreur se produit.
Fichiers journaux globaux (*GlobalLog*.tsv)	Journaux RTA	Journal de tous les événements RTA. Les fichiers journaux globaux sont mis à jour tout au long de l'analyse.
Fichiers journaux des lignes (*LaneLog*.txt)	Journaux RTA	Journal des événements RTA en cours. Les fichiers journaux des lignes sont mis à jour tout au long de l'analyse.

Ressources de dépannage

En cas de questions techniques, consultez les pages d'assistance du système MiniSeq sur le site Web d'Illumina. Les pages d'assistance fournissent un accès à la documentation, aux téléchargements et aux foires aux questions.

Connectez-vous à votre compte MyIllumina pour accéder aux bulletins d'assistance.

En cas de problème de qualité d'analyse ou de performances, communiquez avec l'assistance technique d'Illumina. Consultez la section *Assistance technique*, page 53.

Il est possible de partager un lien vers le résumé d'analyse dans BaseSpace avec l'assistance technique d'Illumina pour faciliter le dépannage.

État du traitement

Le logiciel MiniSeq Control Software répertorie les états d'au moins trois analyses dans le dossier Temp du système. Sur l'écran Manage Instrument (Gérer l'instrument), sélectionnez **Process status** (État du traitement).

Pour chaque nom d'analyse, le système répertorie l'état des composants suivants :

- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** : en fonction du traitement des fichiers BCL
- ▶ **Local Run Manager** : si Local Run Manager a été utilisé pour l'analyse
- ▶ **File Copy** (Copie de fichiers) : en fonction du transfert des fichiers à l'aide de Run Copy Service
- ▶ **BaseSpace** : si BaseSpace a été utilisé pour l'analyse

Dossier d'archivage du séquençage

Le logiciel de commande MiniSeq enregistre les fichiers de résumé d'analyse sur l'ordinateur du système à l'emplacement D:\Illumina\MiniSeq Sequencing Archive pour chaque analyse effectuée sur l'instrument.

Ce dossier contient un sous-dossier pour chaque analyse effectuée sur l'instrument, qui lui-même contient les fichiers suivants :

- ▶ **RunCompletionStatus.xml** : contient l'état d'avancée, le nom du dossier de l'analyse, le nombre de cycles prévus et effectués, la densité des amplifiats, les amplifiats passant le filtre et une estimation du rendement de l'analyse.
- ▶ **RunParameters.xml** : contient des renseignements concernant les paramètres et les composants des analyses. Parmi les renseignements figurent le RFID, le numéro de série, le numéro de lot et la date de péremption.

Erreurs de la vérification automatique

Si les vérifications automatiques avant analyse relèvent une erreur, utilisez les actions recommandées suivantes pour la résoudre.

Si une vérification avant analyse échoue, la RFID de la cartouche de réactifs n'est pas verrouillée et peut être utilisée pour une nouvelle analyse. Cependant, la RFID est verrouillée une fois que les opercules en aluminium sont percés.

Vérifications du système	Action recommandée
Doors Closed (Portes fermées)	Assurez-vous que les portes des compartiments sont fermées.
Consumables Loaded (Consommables chargés)	Les capteurs des consommables n'enregistrent rien. Assurez-vous que chaque consommable est correctement chargé. Sur les écrans de configuration de l'analyse, sélectionnez Back (Retour) pour retourner à l'étape de chargement, puis recommencez la configuration de l'analyse.
Required Software (Logiciel requis)	Des composants essentiels du logiciel sont manquants. Effectuez une mise à jour manuelle pour restaurer tous les composants du logiciel.
Instrument Disk Space (Espace disque de l'instrument)	Le disque dur de l'instrument n'a pas assez d'espace disponible pour réaliser l'analyse. Effacez les données de l'analyse du disque dur de l'instrument.

Vérifications du système	Action recommandée
Network connection (Connexions réseau)	La connexion à l'emplacement spécifié du dossier de sortie a été interrompue. Même si la vérification indique la connexion réseau, le système vérifie la connexion à chaque emplacement spécifié du dossier de sortie situé sur un serveur, un disque externe ou le disque local. Vérifiez l'état de la connexion à l'emplacement spécifié du dossier de sortie.
Network Disk Space (Espace disque réseau)	L'emplacement spécifié du dossier de sortie est plein. Même si la vérification indique l'espace disque réseau, le système vérifie tous les emplacements spécifiés du dossier de sortie situé sur un serveur, un disque externe ou le disque local. Libérez de l'espace disque dans l'emplacement du dossier de sortie spécifié.
Température	Action recommandée
Temperature ramp (Rampe de température)	Communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.
Temperature Sensors (Capteurs de température)	Communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.
Fans (Ventilateurs)	Communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.
Système d'imagerie	Action recommandée
Imaging Limits (Limites de l'imagerie)	Communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.
Z Steps-and-Settle (Étapes et installation Z)	Communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.
Taux d'erreur binaire	Communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.
Flow cell registration (Enregistrement de la Flow Cell)	Il est possible que la Flow Cell ne soit pas correctement positionnée. <ul style="list-style-type: none"> • Sur l'écran Run Setup (Configuration de l'analyse), sélectionnez Back (Retour) pour retourner à l'étape de la Flow Cell. • Déchargez et rechargez la Flow Cell pour vous assurer qu'elle est correctement positionnée.
Distribution des réactifs	Action recommandée
Réponse de la valve	Communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.
Pump (Pompe)	Communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.

Espace du disque dur

Le disque dur de l'ordinateur de l'instrument peut contenir environ 45 analyses, selon les données générées par une analyse utilisant les paramètres suivants :

- ▶ Un espace disque d'environ 5 à 6 Go est nécessaire pour 150 cycles d'analyse à lecture appariée.
- ▶ Un espace supplémentaire de 10 Go est nécessaire pour les fichiers d'analyse lorsque le module d'analyse de reséquençage de Local Run Manager est utilisé.

À chaque analyse effectuée, le logiciel crée un dossier temporaire d'analyse. Lors de l'écriture des fichiers dans ce dossier, les fichiers sont copiés dans le dossier de sortie. Cela signifie que si le dossier de sortie que vous avez indiqué se situe sur le disque dur de l'instrument, deux copies de l'analyse s'inscrivent sur le disque dur. Le logiciel enregistre les trois dossiers temporaires d'analyse les plus récents.

Lorsque vous utilisez le logiciel Local Run Manager pour une analyse, par défaut, les fichiers ne sont pas supprimés. La stratégie de conservation est configurée manuellement dans l'écran System Settings (Paramètres du système) de Local Run Manager.

Les fichiers temporaires peuvent finir par remplir l'espace du disque dur. Songez à utiliser un emplacement réseau pour stocker les données d'analyse et pensez à définir une stratégie de conservation raisonnable dans Local Run Manager en fonction du nombre d'analyses que vous comptez effectuer.

Erreurs RTA

Pour résoudre les problèmes RTA, vérifiez d'abord le journal des erreurs RTA stocké dans le dossier RTALogs. Ce fichier n'est pas présent pour les analyses réussies. Joignez le journal des erreurs lors du signalement des problèmes à l'assistance technique d'Illumina.

Gestion des erreurs

RTA2 crée des fichiers journaux et les enregistre dans le dossier RTALogs. Les erreurs sont enregistrées dans un fichier d'erreurs au format *.tsv.

Les fichiers journaux et d'erreurs suivants sont transférés vers leur emplacement final de sortie à la fin du traitement :

- ▶ *GlobalLog*.tsv récapitule les événements importants survenus pendant l'analyse.
- ▶ *LaneNLog*.tsv répertorie les événements relatifs au traitement. « N » est toujours égal à un sur la Flow Cell d'un système MiniSeq.
- ▶ *Error*.tsv répertorie les erreurs survenues au cours d'une analyse.
- ▶ *WarningLog*.tsv répertorie les avertissements reçus au cours d'une analyse.

Flux de travail de réhybridation

Une analyse de réhybridation peut être nécessaire si les indicateurs générés au cours des quelques premiers cycles montrent des intensités inférieures à 2 500. On s'attend à ce que certaines bibliothèques à faible diversité aient des intensités inférieures à 1 000, ce qui ne peut être résolu par une réhybridation.



REMARQUE

L'utilisation de la commande End Run (Terminer l'analyse) est définitive. L'analyse ne peut pas reprendre, les consommables ne peuvent pas être réutilisés et les données de séquençage de l'analyse ne sont pas enregistrées.

Lorsque vous mettez fin à une analyse et enregistrez la Flow Cell, le logiciel effectue les étapes suivantes avant la fin de l'analyse :

- ▶ Il place la Flow Cell en état de sécurité.
- ▶ Il déverrouille la RFID de la Flow Cell pour une future analyse.
- ▶ Il attribue une date de péremption de réhybridation à la Flow Cell.
- ▶ Il écrit les journaux de l'analyse pour les cycles terminés. Un délai est normal.
- ▶ Il ignore le lavage automatique après analyse.

Lorsque vous démarrez une analyse de réhybridation, le logiciel effectue les étapes d'analyse suivantes :

- ▶ Il crée un dossier d'analyse basé sur le nom unique de l'analyse.
- ▶ Il vérifie que la date de réhybridation de la Flow Cell n'est pas arrivée à expiration.
- ▶ Il amorce les réactifs. Un délai est normal.
- ▶ Il ignore l'étape de génération d'amplifiats.
- ▶ Il retire le primer de lecture 1 précédent.

- ▶ Il hybride un nouveau primer de lecture 1.
- ▶ Il continue la lecture 1 et le reste de l'analyse selon les paramètres de l'analyse spécifiés.

À quel moment arrêter une analyse pour réhybridation

Une réhybridation ultérieure n'est possible que si vous arrêtez l'analyse aux moments suivants :

- ▶ **Après le cycle 5** : les intensités apparaissent après l'enregistrement du modèle, qui nécessite les cinq premiers cycles du séquençage. Bien qu'il soit sûr d'arrêter l'analyse après le cycle 1, il est recommandé d'attendre la fin du cycle 5. N'arrêtez pas une analyse au cours de la génération d'amplifiats.
- ▶ **Lecture 1 ou lecture d'index 1** : arrêtez l'analyse *avant* que ne commence la resynthèse des paires de bases appariées. La Flow Cell ne peut pas être enregistrée pour une réhybridation ultérieure après le début de la resynthèse appariée.

Consommables requis

Une analyse de réhybridation nécessite une nouvelle cartouche de réactifs MiniSeq, quel que soit le moment d'arrêt de l'analyse.

Arrêter l'analyse en cours

- 1 Sélectionnez **End Run** (Terminer l'analyse). Lorsque vous êtes invité à confirmer la commande, sélectionnez **Yes** (Oui).
- 2 Lorsque vous êtes invité à enregistrer la Flow Cell, sélectionnez **Yes** (Oui). Notez la date de péremption pour la réhybridation.
- 3 Retirez la Flow Cell enregistrée et placez-la à une température comprise entre 2 °C et 8 °C jusqu'à ce que vous soyez prêt à configurer l'analyse de réhybridation.



REMARQUE

Vous pouvez conserver la Flow Cell jusqu'à sept jours entre 2 et 8 °C dans le contenant de la Flow Cell avec le couvercle fermé. Pour de meilleurs résultats, réhybridez la Flow Cell enregistrée sous trois jours.

Effectuer un lavage manuel

- 1 À l'écran d'accueil, sélectionnez **Perform Wash** (Procéder au lavage).
- 2 Sur l'écran Wash Selection (Sélection du lavage), sélectionnez **Manual Post-Run Wash** (Lavage manuel après analyse). Consultez la section *Effectuer un lavage manuel de l'instrument*, page 28.



REMARQUE

Si vous n'avez pas encore retiré la cartouche de réactifs de l'analyse arrêtée, vous pouvez l'utiliser pour le lavage manuel. Dans le cas contraire, effectuez le lavage manuel à l'aide de la cartouche de lavage.

Configurer une analyse sur l'instrument

- 1 Préparez une nouvelle cartouche de réactifs.
- 2 Si la Flow Cell enregistrée a été stockée, placez-la de façon à ce qu'elle atteigne la température ambiante (15 à 30 minutes).
- 3 Nettoyez et chargez la Flow Cell enregistrée.

Le système lit la RFID de la Flow Cell comme une Flow Cell enregistrée et confirme une date de réhybridation valide.

- 4 Retirez le flacon des réactifs usagés et jetez le contenu de façon appropriée, puis rechargez le contenant vide.
- 5 Chargez la nouvelle cartouche de réactifs.
- 6 Sur l'écran Run Setup (Configuration de l'analyse), sélectionnez l'une des options suivantes :
 - ▶ **Configuration Local Run Manager**: sélectionnez l'analyse et confirmez les paramètres d'analyse.
 - ▶ **Manual configuration** (Configuration manuelle) : saisissez le nom de l'analyse et spécifiez des paramètres identiques à ceux de l'analyse d'origine.
- 7 Sélectionnez **Next** (Suivant) pour effectuer une vérification avant analyse, puis démarrez l'analyse.

Vérification du système

Une vérification du système n'est pas nécessaire lors du fonctionnement normal ou de l'entretien de l'instrument. Toutefois, un représentant de l'assistance technique d'Illumina peut vous demander de réaliser une vérification automatique du système à des fins de dépannage.

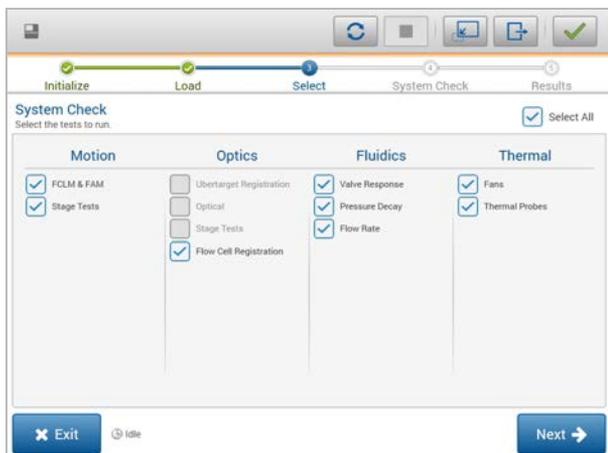


REMARQUE

Si un lavage de l'instrument doit être effectué, effectuez le lavage avant de commencer la vérification du système.

Le démarrage d'une vérification du système ferme automatiquement le logiciel de commande et lance le logiciel MiniSeq Service Software. Celui-ci s'ouvre sur l'écran Load (Charger), qui est configuré pour une utilisation de l'option de chargement avancé.

Figure 29 Vérifications du système disponibles



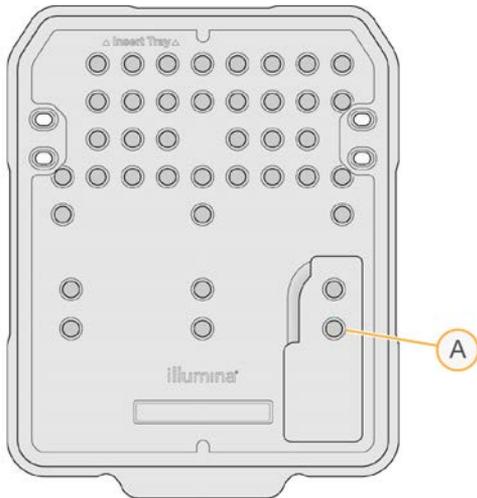
Une fois le chargement des consommables effectué, l'écran Select (Sélectionner) s'ouvre et vous indique les vérifications du système possibles. Les cases non cochées de l'écran Select (Sélectionner) indiquent les tests qui nécessitent l'assistance d'un représentant de terrain d'Illumina.

Réaliser une vérification du système

- 1 À l'écran Manage Instrument (Gérer l'instrument), sélectionnez **System Check** (Vérification du système). Lorsque vous êtes invité à fermer le logiciel de commande, sélectionnez **Yes** (Oui).
- 2 Versez 40 ml d'eau désionisée dans la cartouche de lavage.

Le réservoir approprié correspond à la position n°40 de la cartouche de réactifs préremplie.

Figure 30 Emplacement pour la solution de lavage



A Solution de lavage

- 3 Chargez les consommables comme suit :
 - a Si une Flow Cell usagée ne se trouve pas déjà sur l'instrument, chargez une Flow Cell usagée.
 - b Videz le flacon de réactifs usagés et repositionnez-le sur l'instrument.
 - c Chargez la cartouche de lavage.
- 4 Sélectionnez **Load** (Charger).
Le logiciel positionne la Flow Cell et la cartouche de lavage.
- 5 Sélectionnez **Next** (Suivant). La vérification du système commence.
- 6 **[Facultatif]** Lorsque la vérification du système est terminée, sélectionnez **View** (Afficher) à côté du nom de la vérification afin de visualiser les valeurs associées à chaque vérification.
- 7 Sélectionnez **Next** (Suivant).
Le rapport de vérification du système s'ouvre.
- 8 Sélectionnez **Save** (Enregistrer) pour enregistrer le rapport dans un fichier comprimé. Naviguez vers un emplacement sur le réseau pour enregistrer le fichier.
- 9 Lorsque vous avez terminé, sélectionnez **Exit** (Quitter).
- 10 Lorsque vous êtes invité à fermer le logiciel d'entretien et à redémarrer le logiciel de commande, sélectionnez **Yes** (Oui).
Le logiciel de commande redémarre automatiquement.

Vérification des mouvements

Vérification du système	Description
FCLM et FAM	Vérifie le gain et la distance du mécanisme de chargement de la Flow Cell (FCLM) et du module d'automatisation des liquides (FAM) pour confirmer que les modules fonctionnent correctement.
Tests de la platine	Vérifie les limites de course et les performances de la platine XY et de la platine Z.

Vérification des composants optiques

Vérification du système	Description
Flow Cell Registration (Enregistrement de la Flow Cell)	Mesure l'inclinaison de la lame sur un plan optique, teste les fonctionnalités de la caméra, teste le module d'imagerie et vérifie l'enregistrement de la Flow Cell dans la position correcte d'imagerie.

Vérification de la fluidique

Vérification du système	Description
Valve Response (Réponse de la valve)	Vérifie la précision des mouvements de la vanne et de la pompe ainsi que l'amplitude de mouvement de la seringue de la pompe.
Pressure Decay (Chute de pression)	Vérifie le taux de fuite d'un système fluidique étanche afin de confirmer que la Flow Cell est insérée correctement en position de séquençage.
Flow Rate (Débit)	Vérifie la fonctionnalité des capteurs à bulles, qui servent à détecter la présence d'air dans les lignes de réactifs. Mesure les débits pour vérifier la présence d'occlusions ou de fuites.

Vérification thermique

Vérification du système	Description
Fans (Ventilateurs)	Vérifie la vitesse des ventilateurs du système en impulsions par minute (imp/min) pour confirmer que les ventilateurs fonctionnent. Les ventilateurs qui ne fonctionnent pas renvoient une valeur négative.
Thermal Probes (Sondes thermiques)	Vérifie la température moyenne de chaque capteur thermique. Les capteurs thermiques qui ne fonctionnent pas renvoient une valeur négative.

Paramètres de configuration du réseau

Les paramètres réseau sont configurés lors de l'installation. Si le système doit être reconfiguré, vous pouvez modifier ou réinitialiser les paramètres sur l'écran de configuration réseau. Les paramètres de configuration comprennent l'adresse IP, l'adresse du serveur de noms de domaine (DNS) et le nom de domaine.



REMARQUE

Pour modifier ces paramètres, vous devez avoir ouvert une session en tant qu'administrateur Windows.

Définir la configuration réseau

- 1 À l'écran Manage Instrument (Gérer l'instrument), sélectionnez **System configuration** (Configuration du système).
- 2 Sélectionnez **Network Configuration** (Configuration du réseau).
- 3 Sélectionnez **Obtain an IP address automatically** (Obtenir automatiquement une adresse IP) pour récupérer l'adresse IP depuis un serveur DHCP.



REMARQUE

Le Dynamic Host Configuration Protocol (DHCP) est un protocole réseau standard utilisé sur les réseaux IP pour distribuer de manière dynamique les paramètres de configuration réseau.

Vous pouvez également sélectionner **Use the following IP address** (Utiliser l'adresse IP suivante) pour connecter manuellement l'instrument à un autre serveur, en procédant comme suit. Communiquez avec votre administrateur réseau pour obtenir les adresses propres à votre installation.

- ▶ Entrez l'adresse IP. L'adresse IP est une série de quatre nombres séparés par des points, par exemple 168.62.20.37.
 - ▶ Entrez le masque de sous-réseau, qui est une subdivision du réseau IP.
 - ▶ Entrez l'adresse de la passerelle par défaut, c'est-à-dire le routeur du réseau qui se connecte à Internet.
- 4 Sélectionnez **Obtain a DNS server address automatically** (Obtenir une adresse de serveur DNS automatiquement) pour connecter l'instrument au serveur de noms de domaine associé à l'adresse IP. Vous pouvez également sélectionner **Use the following DNS server addresses** (Utiliser les adresses des serveurs DNS suivantes) pour connecter manuellement l'instrument au serveur de noms de domaine comme suit.
- ▶ Entrez les adresses DNS à privilégier. L'adresse DNS est le nom du serveur utilisé pour traduire les noms de domaine en adresses IP.
 - ▶ Entrez l'adresse DNS secondaire. L'adresse secondaire est utilisée si l'adresse DNS à privilégier ne peut pas traduire un nom de domaine particulier en adresse IP.
- 5 Sélectionnez **Save** (Enregistrer).

Configurer le domaine de l'ordinateur



REMARQUE

Le nom de l'ordinateur de l'instrument est le nom attribué à l'ordinateur de l'instrument au moment de sa fabrication. Toute modification du nom de l'ordinateur peut nuire à la connectivité et nécessiter l'intervention d'un administrateur réseau.

- 1 Connectez l'ordinateur de l'instrument à un domaine ou à un groupe de travail en procédant comme suit.
- ▶ **Pour les instruments connectés à Internet** : sélectionnez **Member of domain** (Membre du domaine), puis entrez le nom de domaine associé à la connexion Internet de votre établissement.



REMARQUE

Tout changement de domaine nécessite le nom d'utilisateur et le mot de passe d'un administrateur.

- ▶ **Pour les instruments qui ne sont pas connectés à Internet** : sélectionnez **Member of work group** (Membre du groupe de travail) puis saisissez un nom de groupe de travail. Le nom du groupe de travail est propre à votre établissement.
- 2 Sélectionnez **Save** (Enregistrer).

Génomomes personnalisés

Vous pouvez charger vos propres références au format FASTA dans l'ordinateur de l'instrument. Vous pouvez charger plusieurs fichiers FASTA uniques **ou** un seul fichier multi-FASTA (recommandé), mais non une association des deux.

Pour résoudre des problèmes posés par un fichier de génome personnalisé, veuillez vérifier que les exigences suivantes sont respectées.

- 1 Assurez-vous que le fichier utilise l'extension *.fa ou *.fasta et est enregistré dans un dossier réservé à la référence.
- 2 Assurez-vous que le nom du chromosome ne contient aucun des caractères suivants :
- ? () [] / \ = + < > : ; " ' , * ^ | &
Pour de meilleurs résultats, n'employez que des caractères alphanumériques dans le nom des chromosomes.

Arrêt de l'instrument

Dans des conditions normales, il n'y a aucune raison d'arrêter l'instrument.

- 1 Sélectionnez **Manage Instrument** (Gérer l'instrument).
- 2 Sélectionnez **Shutdown options** (Options d'arrêt).
- 3 Sélectionnez **Shut down** (Arrêter).
La commande ferme le logiciel de manière sûre et coupe l'alimentation de l'instrument. Attendez au moins 60 secondes avant de mettre à nouveau en marche l'instrument. Un lavage est nécessaire avant l'analyse de séquençage suivante.



ATTENTION

Ne déplacez pas l'instrument. Un déplacement inapproprié de l'instrument peut avoir un impact sur l'alignement optique et compromettre l'intégrité des données. Si vous devez déplacer l'instrument, communiquez avec votre représentant Illumina.

Annexe B Real-Time Analysis

Présentation de Real-Time Analysis	44
Fichiers d'entrée et de sortie	44
Flux de travail de Real-Time Analysis	45

Présentation de Real-Time Analysis

Real-Time Analysis est un logiciel qui fonctionne sur l'ordinateur de l'instrument, extrait les intensités des images pour effectuer la définition des bases, puis attribue un score de qualité à celle-ci.

Le système MiniSeq utilise une version du logiciel Real-Time Analysis appelée RTA2. Le logiciel de commande du système et RTA2 communiquent par le biais d'une interface Web HTTP et de fichiers mémoire partagés. Si RTA2 est arrêté, le traitement ne reprend pas et les données de l'analyse ne sont pas enregistrées.

Fichiers d'entrée et de sortie

Fichiers d'entrée

Le logiciel Real-Time Analysis nécessite l'entrée suivante pour le traitement :

- ▶ Les images des plaques contenues dans la mémoire locale du système.
- ▶ **RunInfo.xml**, qui est généré automatiquement au début de l'analyse, fournit le nom de l'analyse et le nombre de cycles, vérifie si une lecture est indexée et lit le nombre de plaques sur la Flow Cell.

Le logiciel Real-Time Analysis reçoit des commandes du logiciel de commande indiquant l'emplacement du fichier **RunInfo.xml** et si un dossier de sortie facultatif est spécifié.

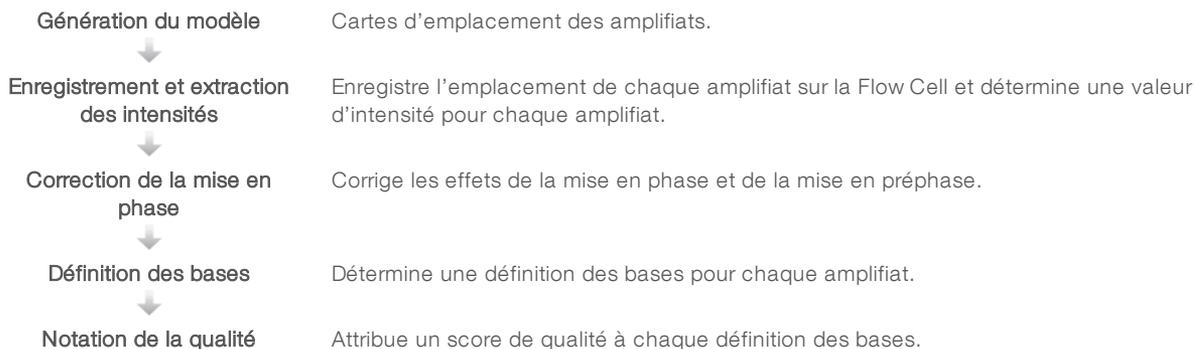
Fichiers de sortie

Les images de chaque canal passent dans la mémoire sous forme de plaques. Les plaques sont de petites zones d'imagerie sur la Flow Cell qui constituent pour la caméra une unité de vision. À partir de ces images, le logiciel produit des fichiers de sortie qui prennent la forme d'un ensemble de fichiers de définition des bases dont la qualité est notée et de fichiers de filtrage. Les fichiers de sortie sont utilisés pour l'analyse en aval sur BaseSpace ou par les modules d'analyse de Local Run Manager.

Type de fichiers	Description
Fichiers de définition des bases	Chaque plaque analysée est incluse dans un fichier regroupant les définitions des bases (*.bcl) pour chaque ligne et chaque cycle. Le fichier cumulé de définition des bases contient la définition des bases ainsi que le score de qualité associé à chaque amplifiat dans cette ligne.
Fichiers de filtrage	Chaque plaque produit des renseignements sur le filtre qui sont rassemblés dans un fichier de filtrage (*.filter) par ligne. Le fichier de filtrage spécifie si un amplifiat a franchi les filtres.
Fichiers d'emplacement des ampliats	Les fichiers d'emplacement des ampliats (*.locs) contiennent les coordonnées X et Y de chaque amplifiat dans une plaque. Lors de la génération du modèle, un fichier d'emplacement des ampliats est créé pour chaque ligne.
Fichier d'index de définition des bases	Afin de préserver les renseignements d'origine sur les plaques, un fichier d'index de définition des bases (*.bci) est produit pour chaque ligne. Le fichier d'index contient une paire de valeurs pour chaque plaque, qui sont respectivement le numéro de cette plaque et le nombre d'ampliats qu'elle contient.

RTA2 fournit des indicateurs en temps réel sur la qualité de l'analyse, stockés dans des fichiers InterOp. Les fichiers InterOp sont des fichiers de sortie binaires contenant des indicateurs relatifs aux plaques, aux cycles et au niveau de lecture utilisés pour afficher des indicateurs en temps réel à l'aide du logiciel Sequencing Analysis Viewer.

Flux de travail de Real-Time Analysis



Génération du modèle

La première étape du flux de travail RTA est la génération du modèle, qui définit la position de chaque amplifiat dans une plaque à l'aide des coordonnées X et Y.

La génération du modèle nécessite les données d'image des cinq premiers cycles de l'analyse. Une fois l'imagerie du dernier cycle de modèle d'une plaque réalisée, le modèle est généré.



REMARQUE

Pour la détection d'un amplifiat pendant la génération du modèle, il doit y avoir au moins une base autre que G dans les **cinq** premiers cycles.

Le modèle est utilisé comme référence pour l'étape suivante d'enregistrement et l'extraction des intensités. Les emplacements des amplifiats sur toute la Flow Cell sont écrits dans les fichiers d'emplacement des amplifiats (*.locs), un pour chaque ligne.

Enregistrement et extraction des intensités

L'enregistrement et l'extraction des intensités débutent après la génération du modèle.

- ▶ L'enregistrement aligne les images produites par chaque cycle d'imagerie selon le modèle.
- ▶ L'extraction d'intensités détermine une valeur d'intensité pour chaque amplifiat du modèle pour une image donnée.

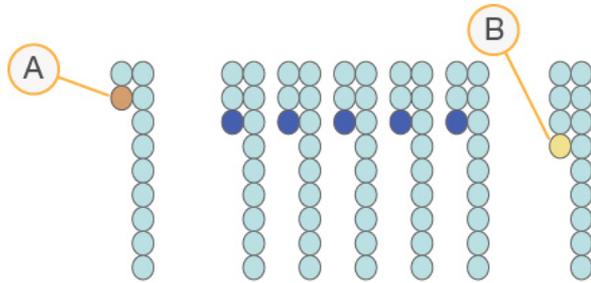
S'il y a échec d'enregistrement de l'image d'un cycle, quelle qu'elle soit, aucune intensité n'est extraite et toutes les bases sont définies comme N pour cette plaque dans ce cycle. Utilisez le logiciel Sequencing Analysis Viewer pour identifier les plaques et les cycles dont l'enregistrement a échoué. Les échecs d'enregistrement sont facilement identifiés, car la colonne P90 des plaques et des cycles indique 0 dans l'onglet Imaging (Imagerie).

Correction de la mise en phase

Lors de la réaction de séquençage, chaque brin d'ADN dans un amplifiat s'étend d'une base par cycle. La mise en phase et la mise en préphase ont lieu lorsqu'un brin est déphasé par rapport au cycle d'incorporation en cours.

- ▶ La mise en phase se produit lorsqu'un brin a un retard d'une base.
- ▶ La mise en préphase se produit lorsqu'un brin a une avance d'une base.

Figure 31 Mise en phase et en préphase



- A Lecture avec une base présentant une mise en phase
- B Lecture avec une base présentant une mise en préphase

RTA2 corrige les effets de la mise en phase et de la mise en préphase, ce qui maximise la qualité des données à chaque cycle tout au long de l'analyse.

Définition des bases

La définition des bases détermine une base (A, C, G ou T) pour chaque amplifiat d'une plaque donnée d'un cycle spécifique. Le système MiniSeq utilise un séquençage à deux canaux, qui ne nécessite que deux images pour encoder les données de quatre bases d'ADN, une provenant du canal rouge et une autre du canal vert.

Les intensités extraites d'une image et sa comparaison avec une autre image donnent quatre populations distinctes, chacune correspondant à un nucléotide. Le processus de définition des bases détermine à quelle population appartient chaque amplifiat.

Figure 32 Visualisation de l'intensité des amplifiats

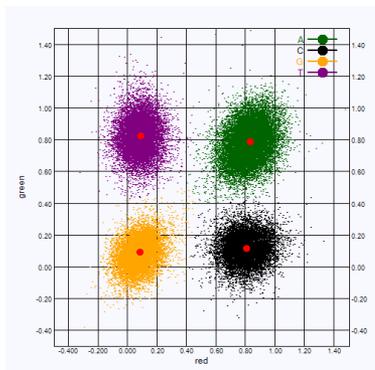


Tableau 1 Définition des bases dans le séquençage à deux canaux

Base	Canal rouge	Canal vert	Résultat
A	1 (allumé)	1 (allumé)	Amplifiats montrant une intensité tant dans le canal rouge que dans le canal vert.
C	1 (allumé)	0 (éteint)	Amplifiats montrant une intensité seulement dans le canal rouge.
G	0 (éteint)	0 (éteint)	Amplifiats ne montrant d'intensité dans aucun emplacement connu.
T	0 (éteint)	1 (allumé)	Amplifiats montrant une intensité seulement dans le canal vert.

Amplifiats passant le filtre

Au cours de l'analyse, RTA2 filtre les données brutes pour supprimer les amplifiats non conformes au seuil de qualité des données.

Dans le cas d'une analyse sur deux canaux, RTA2 utilise un système basé sur une population pour déterminer la pureté d'une définition des bases. Les amplifiats passent le filtre (PF) lorsqu'une seule définition des bases au maximum présente une valeur de pureté inacceptable au cours des 25 premiers cycles. Les amplifiats qui ne passent pas le filtre ne servent pas à la définition des bases lors des cycles suivants.

Considérations relatives à l'indexage

Le processus de définition des bases qui a lieu pendant la lecture d'index diffère de celui qui a lieu pendant les autres lectures.

Une lecture d'index doit contenir au moins une base autre que G dans l'un des deux premiers cycles. Si deux bases G sont définies au début d'une lecture d'index, aucune intensité de signal n'est générée. Il faut obtenir un signal dans l'un des deux premiers cycles pour assurer la performance de démultiplexage.

Pour accroître la robustesse de démultiplexage, sélectionnez à chaque cycle des séquences d'indexage qui fournissent un signal dans un canal au moins ou si possible dans les deux canaux. Suivez cette recommandation pour éviter les combinaisons d'index pouvant aboutir à l'obtention de bases G uniquement à n'importe quel cycle.

- ▶ Canal rouge : A ou C
- ▶ Canal vert : A ou T

Ce processus de définition des bases permet d'éviter les erreurs lors de l'analyse d'échantillons low-plex.

Notation de la qualité

Le score de qualité permet de prédire la probabilité d'une erreur dans la définition des bases. Un score de qualité plus élevé suppose qu'une définition des bases est de plus haute qualité et plus susceptible d'être correcte.

Le score de qualité est un moyen simple d'indiquer la probabilité de petites erreurs. $Q(X)$ représente les scores de qualité, où X est le score. Le tableau suivant montre la relation entre le score de qualité et la probabilité d'une erreur :

Score de qualité $Q(X)$	probabilité d'une erreur
Q40	0,0001 (1 sur 10 000)
Q30	0,001 (1 sur 1 000)
Q20	0,01 (1 sur 100)
Q10	0,1 (1 sur 10)



REMARQUE

La notation de la qualité s'appuie sur une version modifiée de l'algorithme Phred.

La notation de la qualité calcule un ensemble d'indicateurs prévisionnels pour chaque définition des bases, puis utilise ces valeurs pour rechercher un score de qualité dans un tableau de qualité. Les tableaux de qualité servent à fournir des indicateurs de qualité extrêmement précis pour des analyses générées par une configuration spécifique de plateforme de séquençage et de version de chimie.

Une fois le score de qualité établi, les résultats sont enregistrés dans les fichiers de définition des bases.

Annexe C Fichiers de sortie

Fichiers de sortie

Fichiers de sortie de séquençage	48
Structure des dossiers de sortie de séquençage	49
Exigences relatives aux fichiers d'entrée de l'analyse	49

Fichiers de sortie de séquençage

Type de fichiers	Description, emplacement et nom des fichiers
Fichiers de définition des bases	Chaque plaque analysée est incluse dans un fichier de définition des bases; ces fichiers sont rassemblés dans un fichier pour chaque cycle. Le fichier rassemblé contient la définition des bases ainsi que le score de qualité codé associé à chaque amplifiat. Data\Intensities\BaseCalls\L001 [Cycle].bcl.bgzf, où [Cycle] représente le numéro à quatre chiffres du cycle. Les fichiers de définition des bases sont compressés à l'aide du logiciel de compression gzip.
Fichier index de définition des bases	Un fichier index binaire indique les renseignements sur la plaque d'origine dans une paire de valeurs pour chaque plaque, qui sont le numéro et le nombre d'amplifiats de la plaque. Les fichiers index de définition des bases sont créés la première fois qu'un fichier de définition des bases est créé. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[Ligne].bci
Fichiers d'emplacement des amplifiats	Pour chaque plaque, les coordonnées XY de chaque amplifiat sont rassemblées dans un fichier d'emplacement des amplifiats. Les fichiers d'emplacement des amplifiats sont le résultat de la génération du modèle. Data\Intensities\L001 s_[ligne].locs
Fichiers de filtrage	Les fichiers de filtrage spécifient si les amplifiats ont franchi les filtres. Les renseignements de filtrage sont rassemblés dans un fichier de filtrage pour chaque lecture. Les fichiers de filtrage sont générés au cycle 26 et portent sur 25 cycles de données. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[ligne].filter
Fichiers InterOp	Les fichiers binaires sont utilisés pour le logiciel Sequencing Analysis Viewer. Les fichiers InterOp sont mis à jour tout au long de l'analyse. Dossier InterOp
Fichier de configuration RTA	Créé au début de l'analyse, le fichier de configuration RTA indique les paramètres de l'analyse. [Dossier racine], RTAConfiguration.xml
Fichier de renseignements sur l'analyse	Indique le nom de l'analyse, le nombre de cycles à chaque lecture, si la lecture est une lecture d'index et le nombre de témoins et de plaques sur la Flow Cell. Le fichier de renseignements sur l'analyse est créé au début de l'analyse. [Dossier racine], RunInfo.xml

Structure des dossiers de sortie de séquençage

Le logiciel de commande génère automatiquement le nom du dossier de sortie.

📁 Configs

📁 Data (Données)

📁 Intensities (Intensités)

📁 BaseCalls (Appels de bases)

📁 L001 : fichiers de définition des bases rassemblés par cycle

📁 L001 : fichier *.locs rassemblant les emplacements des amplifiats

📁 Images

📁 Focus (Mise au point)

📁 L001 : images de mise au point

📁 **InstrumentAnalyticsLogs** : fichiers journaux décrivant les étapes des analyses sur l'instrument

📁 **InterOp** : fichiers binaires utilisés par le logiciel Sequencing Analysis Viewer

📁 **Logs** : fichiers journaux décrivant les étapes de fonctionnement

📁 **Recipe** : fichier de formule propre à l'analyse portant l'identifiant de la cartouche de réactifs

📁 **RTALogs** : fichiers journaux décrivant les étapes de l'analyse

📄 RTAComplete.xml

📄 RTAConfiguration.xml

📄 RunInfo.xml

📄 RunNotes.xml

📄 RunParameters.xml

Exigences relatives aux fichiers d'entrée de l'analyse

Pour effectuer l'analyse ou pour remettre l'analyse en file d'attente, Local Run Manager requiert les fichiers suivants générés au cours de l'analyse de séquençage. Certains modules d'analyse exigent des fichiers d'entrée supplémentaires pour effectuer l'analyse. Pour obtenir plus de renseignements, consultez le guide du flux de travail correspondant au module d'analyse que vous utilisez.

Nom/Type de fichier	Description
RTAComplete.txt	Un fichier de marqueurs indiquant que le traitement RTA est terminé. La présence de ce fichier indique à Local Run Manager de mettre l'analyse en file d'attente.
RunInfo.xml	Contient des renseignements généraux sur l'analyse, tels que le nombre de lectures et de cycles de l'analyse de séquençage, et indique si une lecture est indexée ou non.
Fichiers de définition des bases (*.bcl)	Contient la définition des bases et un score de qualité codé pour chaque amplifiat de chaque plaque, le tout rassemblé dans un fichier par cycle.
Fichiers filtres (*.filter)	Indique si un amplifiat a passé les filtres. Les renseignements de filtrage sont rassemblés dans un fichier de filtrage pour chaque lecture.
Fichiers d'emplacement des amplifiats (*.locs)	Contient les coordonnées XY de chaque amplifiat sur chaque plaque, rassemblées dans un fichier d'emplacement des amplifiats.

Index

A

- aide, technique 53
- alertes d'état 4
- algorithme Phred 47
- amplifiats passant le filtre 47
- analyse
 - fichiers de sortie 48
 - logiciel 4
- analyse, primaire
 - pureté du signal 47
- arrêt de l'instrument 43
- assistance clientèle 53
- assistance technique 53

B

- barre d'état 2
- base de données dbSNP 7
- base de données miRbase 7
- base de données RefGene 7
- bases de données, préinstallées
 - génomomes de référence
 - format de fichier 7
- BaseSpace 1
 - icônes de transfert 24
- bouton d'alimentation 4, 8

C

- cartouche de réactifs
 - préparation 13
 - présentation 6
 - réservoir n° 28 29
- compartiment d'imagerie 2
- compartiment de la flow cell 2
- compartiment de réactifs 2
- compatibilité
 - flow cell, cartouche de réactifs 5
 - suivi RFID 5-6
- composants
 - barre d'état 2
 - compartiment d'imagerie 2
 - compartiment de la flow cell 2
 - compartiment de réactifs 2
 - flow cell 5
- configuration de l'analyse 14
- configuration de l'analyse, option avancée 9
- configuration manuelle 15

- considérations relatives à l'indexage 47
- consommables 5
 - analyses de séquençage 11
 - cartouche de réactifs 6
 - consommables de lavage 28-29
 - eau de laboratoire 11
 - fournis par l'utilisateur 11
 - maintenance de l'instrument 11
- consommables fournis par l'utilisateur 11
- cycles d'une lecture 12

D

- définition des bases
 - considérations relatives à l'indexage 47
- définitions des bases
 - deux canaux 46
- dépannage
 - espace du disque dur 36
 - fichiers propres à une analyse 34
 - indicateurs de faible qualité 37
 - options pour communiquer avec nous 34
 - vérification avant analyse 35
 - vérification du système 39
- directives à propos de l'eau de laboratoire 11
- documentation 1, 53
- durée de l'analyse 12

E

- éliminer les consommables 9
- emplacement des amplifiats
 - fichiers 48
 - génération du modèle 45
- emplacement du dossier 15
- erreurs
 - probabilité 47
- erreurs et avertissements 4
 - dans les fichiers de sortie 37
- erreurs lors de la vérification avant analyse 35
- espace du disque dur 36

F

- fichiers de définition des bases 48
- fichiers de filtrage 48
- fichiers de sortie 48
- fichiers InterOp 34, 48

- fichiers journaux
 - GlobalLog 37
 - LaneNLog 37
- fichiers locs 48
- filtre de pureté 47
- flow cell
 - préparation 13
 - présentation 5
 - réhybridation 37
- Flow Cell
 - types 1
- flux de travail
 - cartouche de réactifs 13, 17, 21
 - configuration de l'analyse 14
 - considérations relatives à l'indexage 47
 - durée de l'analyse 12
 - hypochlorite de sodium 29
 - indicateurs de l'analyse 23
 - mode manuel 15
 - option de chargement avancé 9
 - réactifs usagés 17, 21
 - séquençage 45
 - vérification avant analyse 19, 23
- flux de travail de séquençage 45
- formamide, position 6 25
- formation 1

G

- génération du modèle 45
- génomomes de référence
 - génomomes personnalisés 42
 - préinstallés 7
- gérer l'instrument
 - arrêter 43

H

- hypochlorite de sodium, lavage 29

I

- icônes
 - erreurs et avertissements 4
 - état 4
- imagerie à deux canaux 46
- imagerie, séquençage à deux canaux 46
- indicateurs
 - cycles d'intensité 24
 - cycles de densité des amplifiats 24

- définition des bases 46
- indicateurs de l'analyse 23
- instrument
 - bouton d'alimentation 4
 - démarrage 8
 - paramètres de configuration 41
- intensités 46
- interrupteur 8

L

- lavage
 - automatique 25
 - composants du lavage 28
 - consommables fournis par l'utilisateur 28
 - lavage manuel 28
- lavage après analyse 25
- lavage de l'instrument 28
- Local Run Manager 4
- logiciel
 - analyse 4
 - analyse d'images, définition des bases 4
 - commande de l'instrument 4
 - durée de l'analyse 12
 - initialisation 8
 - mise à jour automatique 31
 - mise à jour manuelle 32
 - paramètres de configuration 41
 - vérification de la mise à jour 10
- logiciel de commande 4
- logiciel Real-Time Analysis 1, 4
 - résultats 48
- longueur de lecture 12

M

- maintenance de l'instrument
 - consommables 11
- maintenance préventive 28
- maintenance, préventive 28
- mise à jour du logiciel 31
- mise en phase 45
- mise en préphase 45

N

- nom d'utilisateur et mot de passe 8
- nom d'utilisateur et mot de passe du système 8

O

option de chargement avancé 9

P

pages d'assistance 1
paramètres d'analyse
 mode manuel 15
paramètres de configuration 41
passant le filtre (PF) 47
pince de la flow cell 2

R

réactifs
 fournis 5
 mise au rebut adéquate 17, 21
réactifs usagés
 mise au rebut 17, 21, 30
réhybridation de primer 37
réhybridation, lecture 1 37
RTA v2
 arrêt 44
 présentation 44
RTA2
 gestion des erreurs 37
RunInfo.xml 34, 48

S

scores de qualité 47
séquençage, fichiers de sortie 48
Sequencing Analysis Viewer 12
suivi RFID 5

T

tableaux de qualité 47
transfert de données
 icônes d'activité 24
transfert des données
 universal copy service 24

U

universal copy service 24

V

vérification avant analyse 19, 23
vérification du système 39

Assistance technique

Pour obtenir de l'assistance technique, communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.

Site Web : www.illumina.com
Courriel : techsupport@illumina.com

Numéros de téléphone de l'assistance clientèle d'Illumina

Région	Sans frais	Regional (Régional)
Amérique du Nord	+ 1 800 809 4566	
Allemagne	+ 49 8001014940	+ 49 8938035677
Australie	+ 1 800 775 688	
Autriche	+ 43 800006249	+43 19286540
Belgique	+32 80077160	+32 34002973
Chine	400 066 5835	
Corée du Sud	+82 80 234 5300	
Danemark	+ 45 80820183	+ 45 89871156
Espagne	+ 34 911899417	+ 34 800300143
Finlande	+ 358 800918363	+ 358 974790110
France	+ 33 805102193	+ 33 170770446
Hong Kong, Chine	800960230	
Irlande	+ 353 1800936608	+ 353 016950506
Italie	+ 39 800985513	+ 39 236003759
Japon	0800 111 5011	
Norvège	+ 47 800 16836	+ 47 21939693
Nouvelle-Zélande	0800 451 650	
Pays-Bas	+ 31 8000222493	+ 31 207132960
Royaume-Uni	+ 44 8000126019	+ 44 2073057197
Singapour	+ 1 800 579 2745	
Suède	+ 46 850619671	+ 46 200883979
Suisse	+ 41 565800000	+ 41 800200442
Taïwan, Chine	00806651752	
Autres pays	+ 44 1799 534 000	

Fiches signalétiques (SDS) – Disponibles sur le site Web d'Illumina à l'adresse support.illumina.com/sds.html.

Documentation sur les produits – Disponible en téléchargement sur le site support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, Californie 92122 États-Unis

+ (1) 800 809 ILMN (4566)

+ (1) 858 202 4566 (en dehors de l'Amérique du Nord)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

**Destiné à la recherche uniquement.
Ne pas utiliser dans le cadre d'examens diagnostiques.**

© 2021 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

illumina®