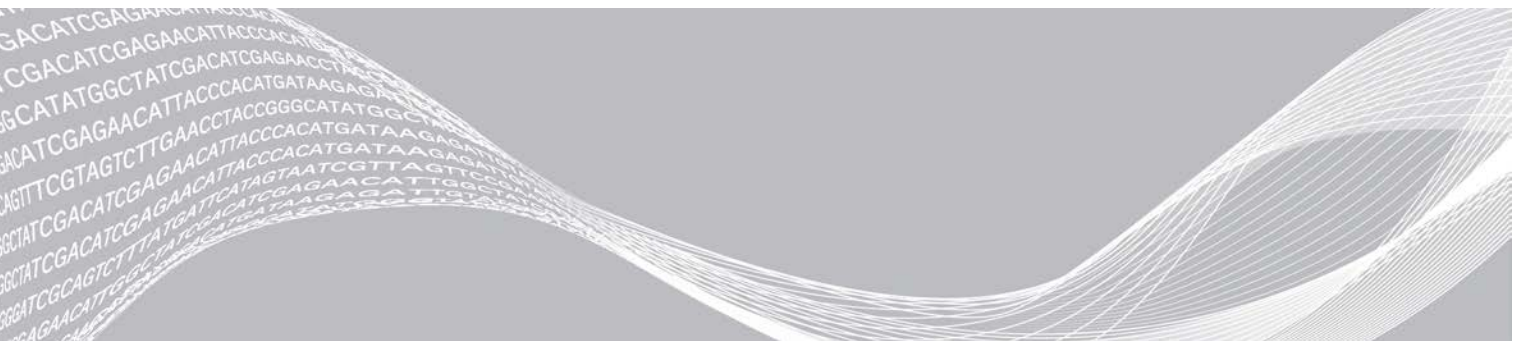


Guide du système

MiSeq



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

N° de document	Date	Description des modifications
Support n° 20000262 Document n° 15027617 v06	Janvier 2021	<p>Mise à jour pour prendre en charge la mise à niveau de MCS v4.0 et de Local Run Manager v3.0.</p> <p>Mise à jour pour prendre en charge la mise à niveau du système Windows 10.</p> <p>Mise à jour des images et du texte pour tenir compte des changements apportés à l'interface utilisateur.</p> <p>Mise à jour des renseignements relatifs au lavage de maintenance.</p> <p>Suppression des renseignements sur BaseSpace Onsite car ils ne sont plus compatibles.</p> <p>Suppression des références au gestionnaire d'expérience Illumina car elles ne sont plus compatibles.</p> <p>Retrait des références aux trousse de réactifs MiSeq v1 car cette version n'est plus prise en charge.</p>
Support n° 20000262 Document n° 15027617 v05	Juin 2019	<p>Mise à jour de l'information sur les cycles d'index.</p> <p>Correction du numéro d'un document.</p>
Support n° 20000262 Document n° 15027617 v04	Juillet 2018	<p>Ajout de nouvelles options de configuration d'analyse pour les modes de séquençage Local Run Manager, Sample Sheets (Feuilles d'échantillons) et Manual (Manuel).</p> <p>Remplacement des références à MiSeq Reporter par des références à Local Run Manager.</p> <p>Ajout de plages de température de réfrigérant à l'annexe Dépannage.</p>
Support n° 20000262 Document n° 15027617 v03	Mai 2018	<p>Retrait du nom d'utilisateur et du mot de passe par défaut nécessaires pour la connexion au système d'exploitation.</p> <p>Illumina recommande l'utilisation d'identifiants spécifiques au site.</p> <p>Ajout de renseignements sur le service de surveillance Illumina Proactive à la section Customize System Settings (Personnaliser les paramètres du système).</p> <p>Ajout d'une note au compartiment des réactifs concernant la plage de température requise pour le refroidisseur.</p> <p>Ajout de MiSeq Reporter et suppression des références à Local Run Manager.</p> <p>Modification du nom du guide. Le Guide du système de séquençage MiSeq devient le Guide du système MiSeq.</p> <p>Corrections mineures apportées au texte.</p>

N° de document	Date	Description des modifications
Support n° 20000262 Document n° 15027617 v02	Janvier 2018	Ajout de nouvelles options de configuration d'analyse pour les modes de séquençage Local Run Manager, Sample Sheets (Feuilles d'échantillons) et Manual (Manuel). Remplacement des références à MiSeq Reporter par des références à Local Run Manager. Ajout de plages de température de réfrigérant à l'annexe Dépannage. Ajout de nouvelles instructions de collecte de données sur la performance de l'instrument dans la section Personnaliser les paramètres du système. Modification du nom du guide. Le Guide du système MiSeq devient le Guide du système de séquençage MiSeq.

N° de document	Date	Description des modifications
Support n° 20000262 Document n° 15027617 v01	Septembre 2015	<p>Modification du nom du guide. Le Guide de l'utilisateur du système MiSeq devient le Guide du système MiSeq.</p> <p>Nouveauté de MCS v2.6 : ajout de renseignements sur BaseSpace Onsite.</p> <p>Réorganisation des renseignements du guide en fonction des tâches plutôt que des écrans.</p> <p>Toutes les références à l'écran de bienvenue renvoient à présent à l'écran d'accueil.</p> <p>Ajout de renseignements contenus dans les guides de préparation des trousse de réactifs MiSeq, y compris les types de Flow Cell, le contenu de la cartouche de réactifs ainsi que les instructions de décongélation de la cartouche de réactifs. Visitez le site Web d'Illumina pour obtenir d'autres renseignements au sujet de la trousse de réactifs MiSeq à l'adresse support.illumina.com/sequencing/sequencing_kits/miseq_reagent_kit.html.</p> <p>Correction du volume de lavage attendu pour un lavage de maintenance, de 17,25 ml à 51,75 ml.</p> <p>Mise à jour de l'ordre des étapes du flux de travail pour indiquer d'abord la préparation de la cartouche de réactifs, puis, le cas échéant, la dénaturation et la dilution des librairies.</p> <p>Déplacement des renseignements relatifs au dépannage dans l'annexe A.</p> <p>Déplacement des renseignements relatifs au dossier de sortie et des renseignements relatifs aux plaques de la Flow Cell dans l'annexe B.</p> <p>Déplacement des renseignements relatifs à la gestion des fichiers dans le chapitre Maintenance.</p> <p>Déplacement des instructions de lavage après analyse du chapitre Maintenance au chapitre Séquençage.</p> <p>Le chapitre Réalisation d'une analyse s'intitule désormais Séquençage.</p> <p>L'analyse primaire est désormais désignée par l'expression « analyse par le logiciel RTA ».</p> <p>Mise à jour des instructions de dilution pour la procédure de lavage après analyse. Le lavage de la ligne des modèles s'effectue maintenant au NaOCl à 5 % plutôt qu'au NaOCl à 6 %.</p> <p>Ajout d'un numéro de référence de NaOCl à 5 % à la liste des consommables fournis par l'utilisateur.</p>

N° de document	Date	Description des modifications
N° 15027617 Rév. O	Septembre 2014	<p>Mise à jour des renseignements suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nouveauté dans MCS v2.5, mise à jour de l'option de lavage après analyse afin d'inclure un lavage de la ligne de modèle • Mise à jour des instructions, le lavage de la ligne des modèles intègre un lavage après analyse comprenant de l'hypochlorite de sodium • Ajout du volume de lavage attendu pour un lavage après analyse <p>Ajout de renseignements sur le flux de travail VeriSeq PGS concernant des ressources supplémentaires, des options d'analyse, des options d'analyse secondaire, des lavages de l'instrument et la couleur du couvercle de la Flow Cell.</p>
N° 15027617 Rév. N	Juin 2014	<p>Ajout de renseignements applicables au flux de travail VeriSeq PGS.</p> <p>Mise à jour des renseignements sur la génération et la densité des amplifiats dans le cadre des mesures d'analyse.</p> <p>Retrait des renseignements sur le logiciel antivirus.</p> <p>Consultez le <i>Guide de préparation du site du système MiSeq</i>.</p>
N° 15027617 Rév. M	Janvier 2014	<p>Mise à jour en fonction des modifications apportées dans MCS v2.4 :</p> <p>Ajout de la fonction Bundle Logs (Regrouper des journaux) pour l'envoi des fichiers de dépannage.</p>
N° 15027617 Rév. L	Octobre 2013	<p>Ajout du redémarrage du logiciel du système en tant qu'étape avant l'analyse.</p> <p>Ajout des microtubes à centrifuger à la liste des consommables fournis par l'utilisateur.</p> <p>Suppression du chapitre <i>Logiciel MiSeq</i> et redistribution de son contenu dans le guide.</p> <p>Suppression des renseignements sur les dossiers pour les formules personnalisées.</p> <p>Suppression des renseignements sur les plages recommandées de densité des amplifiats pour les trousse de réactifs MiSeq.</p> <p>Suppression des détails sur les trousse de réactifs MiSeq et ajout d'un aperçu des caractéristiques des trousse de réactifs. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la documentation de préparation des réactifs pour la trousse que vous utilisez.</p> <p>Contenu ajouté à l'avis de marques de commerce.</p>
N° 15027617 Rév. K	Août 2013	Correction des erreurs de formatage.

N° de document	Date	Description des modifications
N° 15027617 Rév. J	Août 2013	<p>Ajout de descriptions d'analyse pour MCS v2.3 et la trousse de réactifs MiSeq v3.</p> <p>Mise à jour des renseignements suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Trousse de réactifs et compatibilité des versions avec inclusion de la trousse de réactifs MiSeq v3 • Description du dossier de formules personnalisées, inclusion d'un sous-dossier v3 • Modification de la plage de densité des amplifiats pour v2; ajout d'une plage pour v3 • Chemin de sortie pour les fichiers image <p>Correction des codes à barres de la Flow Cell pour les nano Flow Cell (D) et les micro Flow Cell (G).</p> <p>Suppression des renseignements sur la trousse de réactifs MiSeq, y compris au sujet de son contenu et des types de Flow Cell. Pour obtenir plus de renseignements, consultez le <i>Guide de préparation des réactifs MiSeq (document n° 15044983)</i>.</p>
N° 15027617 Rév. H	Mars 2013	<p>Ajout d'une section intitulée <i>Concepts MiSeq</i> qui présente le flux de travail d'analyse, le fichier de manifeste et la feuille d'échantillons.</p> <p>Suppression des renseignements concernant la génération des fichiers FASTQ, les formats du fichier de manifeste, les détails sur le flux de travail d'analyse et les détails sur la feuille d'échantillons. Pour obtenir plus de renseignements sur ces sujets, consultez le <i>Guide de l'utilisateur de MiSeq Reporter</i> n° 15028784 ou le <i>Guide de référence rapide sur les feuilles d'échantillons MiSeq</i> n° 15028392.</p> <p>Suppression des instructions pour la préparation de primers personnalisés. Pour obtenir plus de renseignements, consultez le document <i>Utilisation de primers personnalisés sur MiSeq</i>, référence n° 15041638.</p>
N° 15027617 Rév. G	Janvier 2013	<p>Suppression des instructions pour la dénaturation et la dilution des librairies d'ADN et la préparation de contrôle PhiX Illumina. Consultez le document <i>Préparation de librairies d'ADN pour le séquençage sur MiSeq</i>, référence 15039740.</p> <p>Mise à jour des instructions de lavage de l'instrument, qui indique à présent d'ajouter 25 ml de Tween 20 à 10 % dans 475 ml d'eau de laboratoire, au lieu de 500 ml d'eau de laboratoire.</p>

N° de document	Date	Description des modifications
N° 15027617 Rév. F	Novembre 2012	<p>Ajout des nouveaux renseignements suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ajout de descriptions correspondant aux nouvelles trousse de réactifs MiSeq : trousse de réactifs MiSeq Nano et MiSeq Micro • Ajout d'un aperçu des types de Flow Cell • Ajout d'une description du flux de travail d'analyse d'enrichissement <p>Mise à jour des renseignements suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nouveauté dans MCS v2.1, mise à jour de l'écran Perform Wash (Procéder à un lavage) pour ajouter une option de lavage après analyse et d'une commande pour relever les dispositifs d'aspiration • Mise à jour du tableau de compatibilité des versions pour inclure les dépendances des trousse Nano et Micro • Mise à jour des renseignements sur la compatibilité des versions pour inclure les nouvelles trousse de réactifs
N° 15027617 Rév. E	Octobre 2012	<p>Mise à jour des renseignements suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Correction des instructions de préparation du contrôle PhiX et de la densité attendue d'amplifiats du contrôle PhiX pour une préparation de 1 000 à 1 200 K/mm² • Indication que la procédure pour dénaturer et diluer les librairies, <i>Préparation de vos librairies</i>, ne s'applique pas aux librairies Nextera XT et TruSeq Amplicon • Modification du nom de la mise à niveau : Module d'extension MiSeq devient Mise à niveau du matériel MiSeq • Ajout du <i>Guide de l'utilisateur du MiSeq Reporter</i> à la liste des ressources supplémentaires

N° de document	Date	Description des modifications
N° 15027617 Rév. D	Juillet 2012	<p>Mise à jour des descriptions du logiciel MCS v2.0. Ajout des nouveaux renseignements suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ajout d'une section intitulée <i>Nouveautés de MCS</i> décrivant les nouvelles fonctionnalités du logiciel ainsi que les modifications de l'interface et des flux de travail • Ajout du numéro de référence et de la description de la trousse de réactifs MiSeq v2, 500 cycles • Ajout de la section Compatibilité des versions et exigences • Ajout de la description du module d'extension MiSeq, nécessaire pour l'imagerie à double surface des Flow Cell à 14 plaques • Ajout de la description de la numérotation des plaques de la Flow Cell à double surface • Ajout du flux de travail d'analyse PCR Amplicon pour les librairies du système Nextera XT • Ajout de l'emploi de Tween 20 à 10 % dans les procédures de lavage et les volumes de lavage attendus • Ajout de la version des cartouches de réactifs à la procédure à suivre en cas de défaillance de lecture RFID <p>Mise à jour des renseignements suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Modification des acronymes employés pour les réactifs; IMF, CMF et AMX deviennent respectivement IMS, CMS et AMS (noms des réactifs v2) • Modification de la concentration PhiX, qui passe de 8 pM à 12,5 pM • Modification de la concentration NaOH maximale conseillée, qui passe à 1 mM dans la solution finale • Indication qu'un lavage de maintenance est nécessaire pour sortir l'instrument du mode veille et commencer les étapes de configuration en vue d'une analyse • Suppression de la section Paramètres de la feuille d'échantillons et de l'étape de configuration de la feuille d'échantillons dans le flux de travail; Illumina recommande de créer la feuille d'échantillons avant de préparer l'échantillon (consultez le <i>Guide de référence rapide de la feuille d'échantillons MiSeq</i>, référence n° 15028392 et le <i>Guide de l'utilisateur du gestionnaire d'expérience Illumina</i>, référence n° 15031335).

N° de document	Date	Description des modifications
N° 15027617 Rév. C	Avril 2012	<p>Mise à jour des descriptions du logiciel pour MCS v1.2. Ajout des nouvelles procédures et des nouvelles sections suivantes : Présentation de BaseSpace, Utilisation de primers personnalisés, Génération de fichiers FASTQ, Dépannage d'une erreur de débit, Réalisation d'un test de volume, Réalisation d'un lavage de maintenance et Arrêt de l'instrument, qui comprend un lavage de mise en veille. Mise à jour des renseignements suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mise à jour du nom du flux de travail des amplicons, qui devient « flux de travail Custom Amplicon »; mise à jour du nom du flux de travail DenovoAssembly, qui devient « flux de travail Assembly »; ajout du flux de travail GenerateFASTQ • Ajout des descriptions des fichiers et dossiers d'analyse; mise à jour de la dénomination des dossiers d'analyse; ajout de la taille des fichiers de sortie • Mention de la présence obligatoire du dossier du génome pour le séquençage d'amplicons dans les paramètres de la feuille d'échantillons • Ajout d'instructions relatives à la dilution de NaOH pour dénaturer les librairies • Mise à jour de la Résolution de la défaillance de lecture RFID afin d'inclure les instructions relatives au libre-service MiSeq • Classement sous forme de liste des fichiers et des dossiers utilisés pour le dépannage de l'exécution d'une analyse
N° 15027617 Rév. B	Décembre 2011	<p>Mise à jour des descriptions du logiciel pour MCS v1.1. Ajout de renseignements sur la protection antivirus. Mise à jour des renseignements suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Instructions pour résoudre la défaillance RFID • Préparation des librairies, modification pour NaOH 0,2 N • Convention de dénomination des dossiers d'analyse • Espace disque et capacité de stockage requis • Étapes de configuration de l'analyse, ajout de renseignements pour la configuration de la feuille d'échantillons • Étapes de configuration de l'analyse : ajout d'une remarque sur la mise au rebut du PR2 restant • Durée de l'analyse, ajout du cas où l'analyse dépasse deux heures • Exigences d'entrée de l'analyse, classement sous forme de liste des fichiers de manifeste, comme exigé pour les librairies TruSeq Custom Amplicon • Correction de la taille du tube de HT1 dans le contenu de la trousse de réactifs MiSeq • Modifications des références iCom, qui deviennent Myllumina
N° 15027617 Rév. A	Septembre 2011	Publication originale

Table des matières

Chapitre 1 Vue d'ensemble	1
Introduction	1
Ressources supplémentaires	1
Composants	2
Concepts MiSeq	4
Logiciels du système	5
Options d'analyse secondaire	6
Sequencing Analysis Viewer	8
Espace disque requis	8
Présentation de la trousse de réactifs MiSeq	8
Chapitre 2 Pour commencer	11
Démarrage de l'instrument MiSeq	11
Personnaliser les paramètres du système	11
Configurer les notifications des mises à jour de BaseSpace	12
Configuration des préférences de courriel	12
Configurer les emplacements de dossiers par défaut	13
Consommables	13
Chapitre 3 Séquençage	15
Introduction	15
Durée de l'analyse	15
Génération d'amplifiats	16
Séquençage	16
Analyse	16
Décongélation de la cartouche de réactifs	16
Inspection de la cartouche de réactifs	17
Dénaturer et diluer des librairies	17
Charger des librairies d'échantillons	18
Configurer une analyse à l'aide de MCS	18
Nettoyer la Flow Cell	20
Chargement de la Flow Cell	22
Chargement des réactifs	23
Démarrer l'analyse	25
Surveillance de l'analyse	26
Réalisation d'un lavage après analyse	28
Chapitre 4 Maintenance	33
Fréquence de maintenance	33
Fréquence de maintenance du flux de travail VeriSeq PGS	33
Réaliser un lavage de maintenance	34
Réalisation d'un lavage de mise en veille	36
Gérer les fichiers	38

Mises à jour logicielles	39
Arrêt de l'instrument	40
Annexe A Dépannage	41
Introduction	41
Regrouper des journaux pour le dépannage	41
Réaliser une vérification du système	42
Interrompre ou arrêter une analyse	43
Relever manuellement les dispositifs d'aspiration de la cartouche de réactifs	44
Résolution des erreurs de configuration de l'analyse	44
Résolution des échecs de lecture RFID	44
Réalisation d'un test de volume	45
Mesurer les volumes de lavage attendus	46
Résolution des erreurs liées à la température du réfrigérant pour réactifs	46
Résolution des erreurs d'analyse de Local Run Manager	47
Configuration des paramètres du système	47
Annexe B Fichiers et dossiers de sortie	48
Dossiers d'analyse	48
Contenu du dossier MiSeqOutput	48
Dossiers et fichiers RTA	50
Index	52
Assistance technique	55

Chapitre 1 Vue d'ensemble

Introduction	1
Ressources supplémentaires	1
Composants	2
Concepts MiSeq	4
Logiciels du système	5
Options d'analyse secondaire	6
Sequencing Analysis Viewer	8
Espace disque requis	8
Présentation de la trousse de réactifs MiSeq	8

Introduction

Le système MiSeq^{MC} d'Illumina^{MD} combine la technologie éprouvée de séquençage par synthèse (SBS) à un flux de travail révolutionnaire qui permet d'analyser les données ADN en seulement huit heures. Le système MiSeq regroupe la génération d'amplifiats, le séquençage et l'analyse de données en un seul instrument.

Fonctionnalités

- ▶ **Automatisation autonome** : après la configuration de l'analyse, qui comprend le chargement d'une cartouche de réactifs préremplie, du flacon de tampon et de la Flow Cell, aucun temps de manipulation supplémentaire n'est requis.
- ▶ **Cartouche de réactifs préremplie** : une cartouche de réactifs préremplie à usage unique et spécialement conçue pour fournir les réactifs pour la génération d'amplifiats et le séquençage, y compris les réactifs de séquençage à lectures appariées et les réactifs d'indexage. Le suivi d'identification par radiofréquence (RFID) intégré permet un suivi fiable des consommables.
- ▶ **Commandes de l'interface** : l'interface du logiciel de commande MiSeq Control Software (MCS) comporte les fonctionnalités de configuration de l'instrument, de configuration et de surveillance des analyses et de réalisation des procédures de maintenance.
- ▶ **Chargement pratique des Flow Cell** : un mécanisme de pince positionne automatiquement les Flow Cell lors de leur chargement dans l'instrument. Le suivi d'identification par radiofréquence (RFID) intégré permet un suivi fiable des consommables.
- ▶ **Architecture de fluide novatrice** : le système fluide MiSeq procure une efficacité inégalée de la durée du cycle chimique pendant le séquençage.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA)** : le logiciel d'analyse intégré analyse les données sur l'instrument en temps réel pendant l'analyse de séquençage, ce qui comprend l'analyse d'images et l'appel de bases, et permet d'économiser un temps d'analyse précieux en aval.
- ▶ **Local Run Manager** : le logiciel d'analyse secondaire intégré traite les données à partir de l'analyse RTA pour procéder à l'alignement et fournit des renseignements sur chaque échantillon analysé.

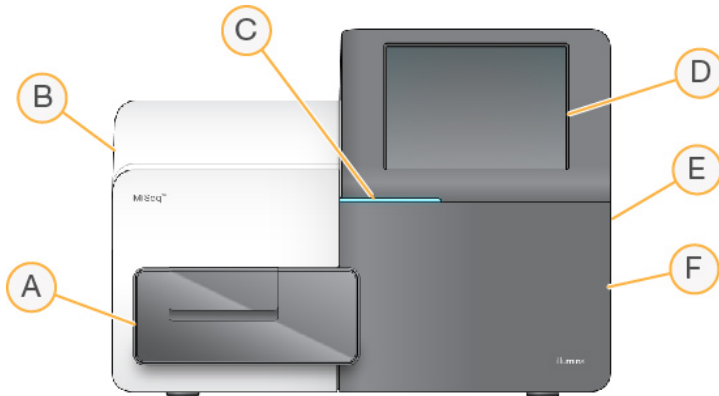
Ressources supplémentaires

Les [pages d'assistance du système MiSeq](#) sur le site Web d'Illumina contiennent des ressources additionnelles. 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	Outil générant des instructions complètes adaptées à votre méthode de préparation des bibliothèques, aux paramètres de vos analyses et à votre méthode d'analyse, et comportant des options pour préciser le niveau de détails souhaité.
<i>Guide de préparation du site du système MiSeq (document n° 15027615)</i>	Fournit les spécifications relatives à l'espace du laboratoire, les exigences électriques et les considérations relatives à l'environnement et au réseau.
<i>Guide de sécurité et de conformité du système MiSeq (document n° 15027616)</i>	Fournit des renseignements concernant les questions de sécurité, les déclarations de conformité et l'étiquetage de l'instrument.
<i>Guide de référence rapide de la feuille d'échantillons MiSeq (document n° 15028392)</i>	Fournit des renseignements sur l'ajout de paramètres à votre feuille d'échantillons.
<i>Guide de dénaturation et de dilution des bibliothèques pour le système MiSeq (document n° 15039740)</i>	Fournit des instructions pour la dénaturation et la dilution de bibliothèques d'échantillons préparées avant le séquençage sur l'instrument MiSeq, et pour la préparation d'un contrôle PhiX. Cette étape s'applique à la plupart des types de bibliothèques.
<i>Guide des primers personnalisés MiSeq (document n° 15041638)</i>	Fournit des instructions pour la préparation et le chargement de primers personnalisés et pour la modification de feuilles d'échantillons pour des primers personnalisés.
<i>Guide du logiciel Local Run Manager (document n° 1000000111492)</i>	Présente un aperçu du logiciel Local Run Manager, les instructions d'utilisation des fonctionnalités du logiciel et les instructions d'installation des modules d'analyse sur l'ordinateur de l'instrument.
<i>Guide de l'utilisateur de BaseSpace (document n° 15044182)</i>	Donne des instructions pour l'utilisation de BaseSpace et des descriptions des graphiques générés pour chaque flux de travail d'analyse.

Composants

Le système MiSeq comprend un écran tactile, une barre d'état, un bouton d'alimentation avec ports USB adjacents et trois compartiments.



- A **Compartiment de la Flow Cell** : contient la platine où est placée la Flow Cell pendant l'analyse. Les moteurs de la platine extraient la platine du module optique joint pour le chargement de la Flow Cell et la réinsèrent dans le module lorsque l'analyse commence.
- B **Compartiment optique joint** : contient les composants optiques qui permettent l'imagerie de la Flow Cell.
- C **Barre d'état** : indique que la Flow Cell est prête pour le séquençage (vert), qu'elle est en cours de traitement (bleu) ou qu'elle nécessite une intervention (orange).
- D **Écran tactile** : affiche l'interface du logiciel de commande pour la configuration du système et des analyses.

- E **Ports USB externes** : facilitent le transfert de fichiers et de données sur l'ordinateur de l'instrument à partir de l'écran de surveillance tactile.
- F **Compartment des réactifs** : contient les réactifs à la bonne température, les solutions de lavage et le flacon à réactifs usagés. Un verrou magnétique sécurise la porte du compartiment des réactifs.

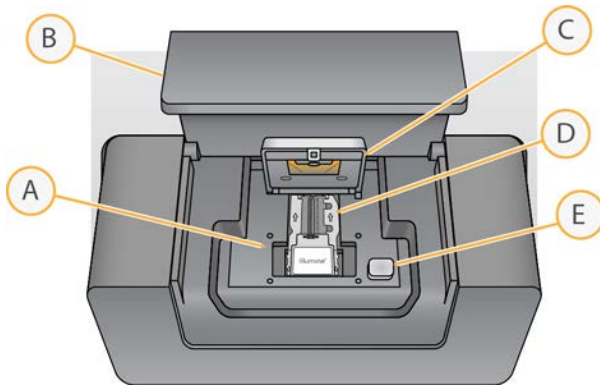
L'interface MiSeq vous guide tout au long du processus de configuration de l'analyse grâce à l'écran de surveillance tactile. Le chargement des composants de l'analyse nécessite d'accéder au compartiment des réactifs et au compartiment de la Flow Cell.

Compartiment de la Flow Cell

Ce compartiment contient la platine de la Flow Cell, la station thermique et les connexions fluidiques vers la Flow Cell. La platine de la Flow Cell maintient la Flow Cell. La pince de Flow Cell fixe et positionne la Flow Cell. Lorsque la pince de la Flow Cell se ferme, deux broches à proximité de sa charnière positionnent automatiquement la Flow Cell.

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

Figure 1 Compartiment de la Flow Cell



- A Platine de la Flow Cell
- B Porte du compartiment de la Flow Cell
- C Pince de la Flow Cell
- D Flow Cell
- E Bouton de libération de la pince de la Flow Cell

Compartiment des réactifs

Le compartiment des réactifs contient le réfrigérant pour réactifs et les emplacements du tampon de lavage (PR2) et du flacon à déchets. Afin de conserver une température égale, ouvrez et fermez le réfrigérant pour réactifs uniquement lorsque cela vous est demandé.



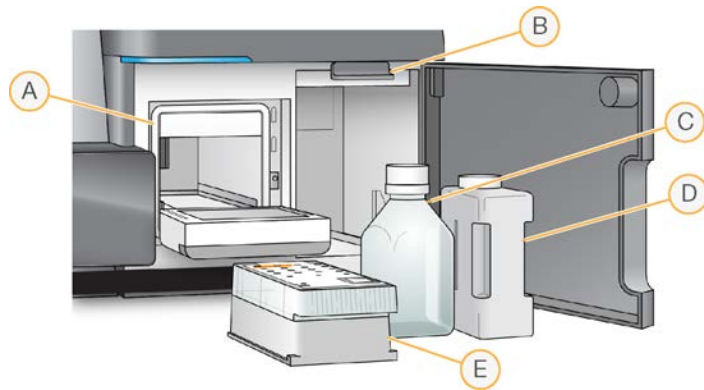
REMARQUE

La plage de température requise du réfrigérant pour réactifs est de 2 °C à 11 °C.

Au cours de l'analyse, le réfrigérant pour réactifs contient une cartouche de réactifs à usage unique. Au cours du lavage de l'instrument, le réfrigérant pour réactifs contient le plateau de lavage. Le logiciel baisse automatiquement les dispositifs d'aspiration dans chaque réservoir de la cartouche de réactifs au moment voulu de l'analyse, en fonction de la procédure en cours d'exécution.

À droite du réfrigérant pour réactifs se trouvent des emplacements spécifiquement prévus pour le flacon de PR2 et le flacon à déchets. La poignée des dispositifs d'aspiration met les flacons en place et abaisse le dispositif d'aspiration approprié dans chaque flacon. Les réactifs sont pompés par les dispositifs d'aspiration, dans les lignes fluidiques, vers la Flow Cell. Les déchets des réactifs sont transférés dans le flacon à déchets tout au long du processus.

Figure 2 Composants du compartiment des réactifs



- A Réfrigérant pour réactifs
- B Poignée des dispositifs d'aspiration (illustrée en position levée)
- C Flacon de PR2
- D Flacon à déchets
- E Cartouche de réactifs

Concepts MiSeq

Les concepts et termes suivants sont courants dans les étapes de configuration d'analyse du système MiSeq.

Concept	Description
Analysis workflow (Flux de travail d'analyse)	Une procédure d'analyse secondaire est effectuée par Local Run Manager. Le flux de travail pour chaque analyse figure sur la feuille d'échantillons ou dans le module sélectionné.
Manifeste	Fichier qui indique un génome de référence et des régions de référence ciblées à utiliser à l'étape de l'alignement. Pour les flux de travail qui nécessitent un manifeste, le fichier de manifeste est indiqué dans la feuille d'échantillons et copié dans le dossier de manifeste désigné dans MCS. Les fichiers de manifeste peuvent aussi être chargés dans Local Run Manager aux fins des analyses secondaires.
Génome de référence	Fichier au format FASTA qui contient les séquences de génome utilisées lors d'une analyse. Pour la plupart des flux de travail d'analyse, le fichier de génome de référence est indiqué dans la feuille d'échantillons.
Dossier d'analyse	Structure de dossier remplie par le logiciel RTA (dossier MiSeqOutput) ou dossier rempli par Local Run Manager (MiSeqAnalysis). Pour plus de renseignements, consultez la section <i>Dossiers d'analyse</i> , page 48.

Concept	Description
Feuille d'échantillons	Fichier de valeurs séparées par des virgules (*.csv) qui contient les renseignements servant à configurer et à effectuer une analyse de séquençage, notamment une liste des échantillons et les séquences d'indexage correspondantes. La feuille d'échantillons peut être fournie pendant les étapes de configuration sur le système MiSeq. Une fois que l'analyse a commencé, la feuille d'échantillons est renommée SampleSheet.csv et copiée dans les dossiers d'analyse : MiSeqTemp, MiSeqOutput et MiSeqAnalysis.

Pour obtenir plus de renseignements sur les flux de travail et les formats de fichier de manifeste, consultez le *Guide du logiciel Local Run Manager (document n° 1000000111492)*.

Pour obtenir plus de renseignements sur les feuilles d'échantillons, consultez le *Guide de référence rapide de la feuille d'échantillons MiSeq (document n° 15028392)*.

Logiciels du système

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

- ▶ **Logiciel de commande MiSeq Control Software (MCS)** : commande le fonctionnement de l'instrument. L'interface du logiciel de commande MCS vous guidera tout au long des étapes de chargement de la Flow Cell et des réactifs avant le lancement de l'analyse. Un aperçu des statistiques de qualité s'affiche pendant la progression de l'analyse.
- ▶ Lors de l'analyse, MCS gère la platine de la Flow Cell, distribue les réactifs, commande la température de la Flow Cell et capture les images des amplifiats sur la Flow Cell. MCS exécute l'analyse selon les paramètres indiqués dans le logiciel Local Run Manager.
- ▶ **Logiciel Real-Time Analysis (RTA)** : exécute les analyses d'images et la définition des bases tout en affectant un score de qualité à chacune des bases, pour chacun des cycles. Les images sont temporairement stockées dans le dossier d'analyse pour leur traitement par RTA, puis automatiquement supprimées à la fin de l'analyse RTA.
- ▶ **Local Run Manager** : une solution intégrée sur instrument, destinée à la création d'analyses, à la surveillance de l'état des analyses, à l'analyse des données de séquençage et à l'affichage des résultats. Local Run Manager fait également le suivi des données sur les échantillons et sert au contrôle des autorisations des utilisateurs. Le logiciel s'exécute comme un service Windows sur l'ordinateur de l'instrument et s'affiche dans un navigateur Web. Pour plus de renseignements consultez la section *Logiciel Local Run Manager, page 7*.




Des logiciels facultatifs sont également utilisés hors de l'instrument, notamment le visualiseur d'analyse de séquençage (Sequencing Analysis Viewer, ou SAV). Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Sequencing Analysis Viewer, page 8*.

Icônes d'état

Une icône d'état dans l'interface du logiciel de commande indique un changement de conditions pendant la configuration de l'analyse ou en cours d'analyse. Les chiffres affichés sur l'icône indiquent le nombre de points à signaler dans chaque cas.

Lorsque l'état de l'analyse change, l'icône clignote pour vous en avertir. Sélectionnez l'icône pour afficher une description de la situation. Sélectionnez **Acknowledge** (Accepter) pour effacer le message, puis **Close** (Fermer) pour fermer la boîte de dialogue.

Filtrez les types de message à afficher dans la fenêtre d'état en sélectionnant les icônes dans la marge supérieure de la fenêtre. En sélectionnant une icône, vous activez ou désactivez son affichage.

Icône d'état	Nom de l'état	Description
	État OK	Aucune modification. Le système est normal.
	Avertissement	Les avertissements n'interrompent pas l'analyse. Ils peuvent cependant nécessiter une action avant de poursuivre.
	Erreur	En règle générale, les erreurs interrompent l'analyse et requièrent une intervention avant sa reprise.

Indicateurs de capteurs

Les indicateurs de capteurs au bas de chaque écran de l'interface montrent l'état des composants de l'instrument.

Figure 3 Indicateurs de capteurs



De gauche à droite, les indicateurs de capteurs représentent les composants suivants :

- ▶ Température du réfrigérant pour réactifs en °C
- ▶ Température de la Flow Cell en °C
- ▶ Statut de la connexion BaseSpace^{MD} (pour obtenir plus d'informations sur les indicateurs de statut de BaseSpace, consultez la section [Présentation de BaseSpace, page 7](#))

Options d'analyse secondaire

L'analyse des données de séquençage MiSeq peut s'effectuer sur l'ordinateur de l'instrument à l'aide de Local Run Manager ou sur le nuage à l'aide de BaseSpace. Ces applications fournissent des renseignements sur l'alignement, les variants et les assemblages de contigs pour chaque génome demandé et chaque échantillon d'une analyse sur plusieurs échantillons.

Présentation de BaseSpace

BaseSpace^{MD} est l'environnement infonuagique d'Illumina.

Connectez-vous à BaseSpace lorsque vous configurez l'analyse de séquençage. Lorsque vous utilisez BaseSpace, l'option facultative de stockage des données de l'analyse en local vous est proposée. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Personnaliser les paramètres du système*, page 11.

Lorsque vous commencez votre analyse de séquençage, l'icône change pour indiquer que MiSeq est connecté à BaseSpace et que les fichiers de données sont en cours de transfert vers l'emplacement désigné.

Lorsque vous utilisez BaseSpace, les fichiers de données sont chiffrés en transit, déchiffrés lors de l'analyse puis de nouveau chiffrés lors du stockage.

BaseSpace est automatiquement déconnecté de l'instrument MiSeq à la fin de l'analyse ou dès la fin du transfert de tous les fichiers de l'analyse en temps réel (RTA). En cas d'interruption de la connexion Internet, le téléchargement des fichiers de l'analyse continue à partir du point d'interruption, une fois la connexion rétablie.

Dès que le dernier fichier de définition des bases est téléchargé dans BaseSpace, l'analyse secondaire des données commence. BaseSpace prend en charge les mêmes flux de travail d'analyse qu'il est possible de réaliser sur l'instrument à l'aide de Local Run Manager.

Vous pouvez vous connecter à BaseSpace à l'adresse basespace.illumina.com. Connectez-vous à l'aide de votre identifiant de compte MyIllumina. Pour obtenir plus de renseignements sur BaseSpace, consultez le *Guide de l'utilisateur de BaseSpace (document n° 15044182)* et les pages d'aide BaseSpace sur le site Web d'Illumina.

Logiciel Local Run Manager

Le logiciel Local Run Manager est une solution intégrée sur instrument, destinée à la création d'analyses, à la surveillance de l'état des analyses, à l'analyse des données et à l'affichage des résultats. Le logiciel s'intègre à MCS et traite les définitions de bases générées au cours de l'analyse initiale. Local Run Manager procède automatiquement à l'analyse secondaire dès la fin de l'analyse de séquençage.

Local Run Manager sert à enregistrer de l'information sur les échantillons au moment de la préparation des bibliothèques et assure le suivi positif des échantillons tout au long du processus en générant de l'information à propos de chaque échantillon.

De plus, Local Run Manager peut contrôler l'authentification des utilisateurs, si cette fonction est activée, et accorder les autorisations associées aux différents niveaux d'accès. Les autorisations sont sauvegardées dans un fichier de base de données indexé par l'instrument MiSeq. Local Run Manager peut également surveiller l'analyse de séquençage. Pour obtenir plus de renseignements, consultez le *Guide du logiciel Local Run Manager v3 (document n° 1000000111492)*.

Séquençage pendant l'analyse

Les ressources informatiques du système MiSeq sont dédiées au séquençage ou à l'analyse.

Avec Local Run Manager, si une nouvelle analyse de séquençage est lancée sur le système MiSeq avant la fin de l'analyse secondaire d'une analyse précédente, une boîte de dialogue de confirmation s'affiche. Après avoir confirmé le lancement d'une nouvelle analyse de séquençage, l'analyse secondaire de l'analyse précédente est suspendue jusqu'à ce que la nouvelle analyse de séquençage prenne fin.

À la fin du séquençage, l'analyse secondaire de l'analyse précédente recommence automatiquement du début.

Sequencing Analysis Viewer

Pour surveiller votre analyse plus en détail sans interférer avec celle-ci, utilisez le visualiseur d'analyse de séquençage Sequencing Analysis Viewer (SAV) d'Illumina. L'instrument MiSeq doit être connecté au réseau pour qu'il soit possible d'examiner les résultats d'analyse primaire avec SAV.

Le logiciel SAV permet d'examiner les mesures pendant une analyse, à mesure qu'elles sont générées, et une fois l'analyse terminée. Installez SAV sur un ordinateur connecté au même réseau que l'instrument MiSeq, mais indépendant de ce dernier. Après le lancement du logiciel, accédez au dossier de sortie de votre analyse.

Après la génération du modèle, SAV fournit des mesures générées par RTA et les organise sous forme de tracés, de graphiques et de tableaux.



REMARQUE

Le logiciel SAV est compatible avec tous les systèmes de séquençage d'Illumina, dont la plupart utilisent des Flow Cell à huit lignes. Certaines vues comprennent des listes déroulantes montrant les lignes 1 à 8. Étant donné que la Flow Cell MiSeq comporte une seule ligne, sélectionnez **All** (Tout) ou **Lane 1** (Ligne 1). Pour plus de renseignements, consultez le *Guide de l'utilisateur du logiciel SAV (document n° 15020619)*.

Espace disque requis

L'ordinateur intégré à l'instrument dispose d'une capacité de stockage d'environ 550 Go.

Avant le lancement d'une analyse, le logiciel vérifie l'espace disque disponible. Si l'espace disque n'est pas suffisant pour l'analyse, un message indiquant l'espace disque requis s'affiche.

Si vous êtes invité(e) à libérer de l'espace disque, déplacez ou supprimez les dossiers des anciennes analyses de manière appropriée. Pour plus de renseignements, consultez la section *Gérer les fichiers*, page 38. Après avoir libéré l'espace disque adéquat, sélectionnez **Restart Check** (Redémarrer la vérification).

Présentation de la trousse de réactifs MiSeq

La trousse de réactifs MiSeq est une trousse à usage unique qui est requise pour faire une analyse de séquençage. Elle est offerte en divers types et différentes tailles. Chaque type de trousse de réactifs MiSeq contient un type de Flow Cell spécifique à la trousse et tous les réactifs nécessaires à l'exécution d'une analyse.

La Flow Cell, le flacon de PR2 et la cartouche de réactifs fournis dans la trousse utilisent l'identification par radiofréquence (RFID) pour assurer avec précision le suivi et la compatibilité des consommables.

Utilisez toujours la cartouche de réactifs associée à votre type de Flow Cell. Si la cartouche de réactifs n'est pas compatible, un message apparaît pendant les étapes de configuration de l'analyse pour vous inviter à charger une cartouche de réactifs compatible.

Pour consulter la description des trousse de réactifs offertes, rendez-vous sur la [page de produit des trousse de réactifs MiSeq](#) sur le site Web d'Illumina.

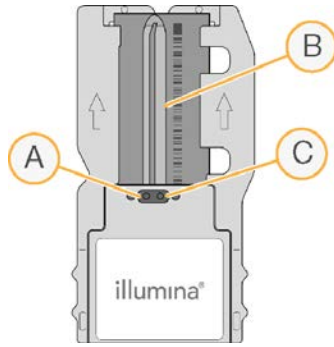
Flow Cell

La Flow Cell MiSeq est un substrat de verre à usage unique qui sert de support à la génération des amplifiats et à la réaction de séquençage.

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. Les déchets qui sortent de la Flow Cell sont transférés dans le flacon à déchets.

Les bibliothèques sont chargées sur la cartouche de réactifs avant la configuration de l'analyse et sont automatiquement transférées vers la Flow Cell après le lancement.

Figure 4 Flow Cell MiSeq



- A Port de sortie
- B Zone d'imagerie
- C Port d'entrée

Couleur du couvercle de la Flow Cell

La couleur du couvercle du conteneur spécial indique le type de Flow Cell :

Flow Cell	Couleur du couvercle de la Flow Cell
Flow Cell standard Flow Cell PGS	Transparent
Micro Flow Cell	Vert
Nano Flow Cell	Jaune

Présentation de la cartouche de réactifs

La cartouche de réactifs MiSeq est un consommable à usage unique comprenant des réservoirs scellés par un opercule d'aluminium et préremplis de réactifs de génération d'amplifiats et de séquençage en quantité suffisante pour séquencer une Flow Cell.

Chaque réservoir de la cartouche est numéroté. Les bibliothèques d'échantillons sont chargées dans la cartouche à la position 17, étiquetée **Load Samples** (Charger les échantillons).



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.

Réservoirs réservés

Figure 5 Cartouche de réactifs avec réservoirs numérotés

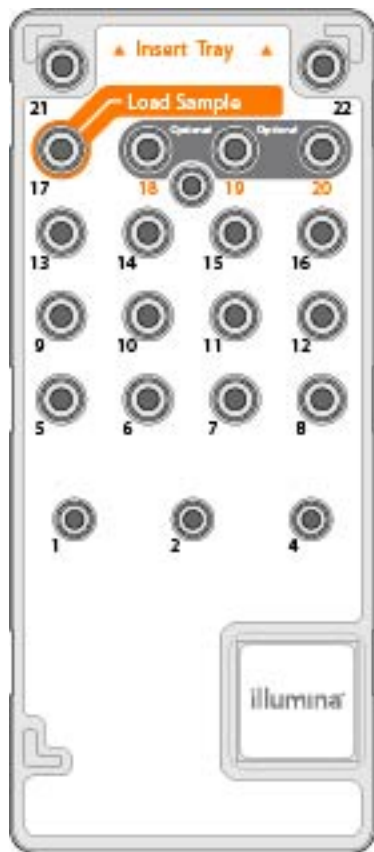


Tableau 1 Réservoirs pour cartouche de réactifs

Position	Nom du réactif	Description
8	LDR	Réactif de dénaturation (contient du formamide)
17	Réservé	Load Sample (Charger l'échantillon) (Réservé aux librairies d'échantillons)
18	Réservé	Réservé pour le primer de lecture 1 personnalisé [Facultatif]
19	Réservé	Réservé pour le primer de lecture d'index personnalisé [Facultatif]
20	Réservé	Réservé pour le primer de lecture 2 personnalisé [Facultatif]



REMARQUE

Pour obtenir plus de renseignements sur l'utilisation de primers personnalisés dans la cartouche de réactifs MiSeq, consultez le *Guide des primers personnalisés MiSeq (document n° 15041638)*.

Chapitre 2 Pour commencer

Démarrage de l'instrument MiSeq	11
Personnaliser les paramètres du système	11
Configurer les notifications des mises à jour de BaseSpace	12
Configuration des préférences de courriel	12
Configurer les emplacements de dossiers par défaut	13
Consommables	13

Démarrage de l'instrument MiSeq

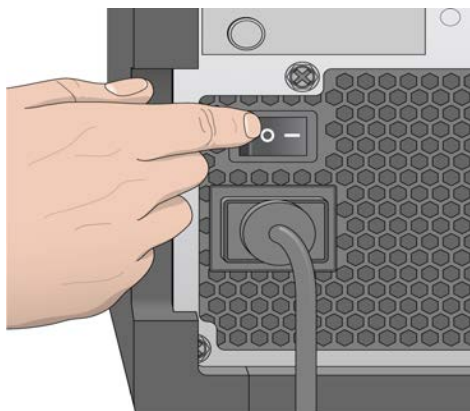
- 1 Mettez l'interrupteur d'alimentation situé à l'arrière de l'instrument en position | (Marche).



REMARQUE

Laissez l'instrument allumé en permanence pour garantir des performances optimales. Toutefois, si vous devez éteindre l'instrument, consultez la section *Arrêt de l'instrument*, page 40. Attendez **au moins** 60 secondes avant de rallumer l'appareil.

Figure 6 Emplacement de l'interrupteur d'alimentation



- 2 Attendez que le système se charge, puis connectez-vous au système d'exploitation. Si nécessaire, consultez l'administrateur de votre établissement pour obtenir le nom d'utilisateur et le mot de passe. Une fois le système d'exploitation chargé, le logiciel de commande MiSeq Control Software (MCS) est lancé et le système s'initialise automatiquement.
- 3 Pour Local Run Manager, si la gestion des utilisateurs est activée, connectez-vous à l'aide de votre nom d'utilisateur et de votre mot de passe Local Run Manager, puis sélectionnez **Next** (Suivant).

Personnaliser les paramètres du système

- 1 Dans le menu principal, cliquez sur **System Settings** (Paramètres du système).
- 2 Sélectionnez l'onglet **Run** (Analyse).
- 3 Sélectionnez **Post Run Wash** (Lavage après analyse) ou **Maintenance Wash** (Lavage de maintenance). Le lavage de l'instrument est requis après chaque analyse. Le logiciel exige qu'un lavage soit effectué avant la configuration de l'analyse suivante. L'option Post-Run Wash (Lavage après analyse) indique le type de lavage qui est réalisé par défaut. Le lavage après analyse dure approximativement 30 minutes. Le lavage de maintenance dure approximativement 90 minutes.

- 4 **[Facultatif]** Sélectionnez **Start run after pre-run check. Do not prompt for confirmation.** (Lancer l'analyse après la vérification avant analyse. Ne pas demander de confirmation.) pour lancer l'analyse automatiquement.
- 5 Sélectionnez l'onglet **BaseSpace**.
- 6 Sélectionnez la région de BaseSpace à laquelle l'instrument doit être connecté. Cette configuration sert à garantir le stockage approprié des données envoyées à l'assistance et au service de surveillance Illumina Proactive.
- 7 Sélectionnez **Send instrument Performance Data to Illumina to aid technical support** (Envoyer les données sur la performance de l'instrument à Illumina pour faciliter l'assistance technique) pour activer le service de surveillance Illumina Proactive. Le nom du paramètre affiché dans l'interface du logiciel pourrait être différent du nom indiqué dans le présent guide, selon la version du MCS utilisée. Lorsque ce paramètre est activé, les données relatives à la performance de l'instrument sont transmises à Illumina. Ces données facilitent le dépannage par Illumina et lui permettent de détecter les pannes potentielles, d'exécuter une maintenance proactive et d'optimiser le temps d'utilisation de l'instrument. Pour obtenir plus de renseignements sur les avantages de ce service, consultez la *note technique d'Illumina Proactive (document n° 1000000052503)*.
Ce service :
 - ▶ Ne transmet pas de données de séquençage.
 - ▶ Nécessite la connexion de l'instrument à un réseau ayant accès à Internet.
 - ▶ Est activé par défaut. Pour choisir de ne pas utiliser ce service, désactivez le paramètre **Send Instrument Performance Data to Illumina to aid technical support** (Envoyer les données sur la performance de l'instrument à Illumina pour faciliter l'assistance technique).

Configurer les notifications des mises à jour de BaseSpace

- 1 Dans le menu principal, cliquez sur **Software Update** (Mise à jour logicielle).
- 2 Sélectionnez l'option **Automatically check for new software updates on BaseSpace** (Rechercher automatiquement les nouvelles mises à jour logicielles sur BaseSpace).

Configuration des préférences de courriel

L'instrument MiSeq peut être configuré pour envoyer une notification par courriel lorsque l'analyse RTA est terminée, lorsque l'analyse secondaire sur instrument est terminée ou si une erreur logicielle MiSeq critique se produit.

- 1 Dans le menu principal, cliquez sur **System Settings** (Paramètres du système).
- 2 Sélectionnez l'onglet **Email Notifications** (Alertes par courriel).
- 3 Saisissez les renseignements suivants :
 - ▶ **Local SMTP email server address** (Adresse du serveur de courriel SMTP local) : à l'aide du clavier sur l'écran, saisissez l'adresse de serveur de courriel SMTP local. Si nécessaire, communiquez avec l'administrateur de l'installation pour obtenir ces renseignements.
 - ▶ **Sender address** (Adresse de courriel de l'expéditeur) : à l'aide du clavier sur l'écran, saisissez l'adresse de courriel de l'expéditeur. Il peut s'agir de votre adresse de courriel ou d'une autre adresse indiquée pour l'envoi des notifications par courriel.
 - ▶ **Recipient addresses** (Adresses des destinataires) : à l'aide du clavier sur l'écran, saisissez les adresses de courriel de chacun des destinataires des notifications. Séparez les adresses de courriel par une virgule. Sélectionnez **Test** pour envoyer un courriel de test aux destinataires des notifications.

- ▶ **Notify via email when** (Notifier par courriel lorsque) : cochez cette case pour chacun des événements d'analyse déclenchant une notification.

Configurer les emplacements de dossiers par défaut

Les dossiers peuvent se trouver sur un réseau local ou sur l'ordinateur de l'instrument.

- 1 Dans le menu principal, cliquez sur **System Settings** (Paramètres du système).
- 2 Sélectionnez l'onglet **Folders** (Dossiers).
- 3 Saisissez les emplacements par défaut pour les dossiers suivants.
 - ▶ **Output Folder** (Dossier de sortie) : définit l'emplacement où les fichiers de sortie des analyses sont placés par défaut. Placez le dossier de sortie par défaut sur le réseau aux fins du partage et de l'archivage à long terme des fichiers. Pour plus de renseignements, consultez la section *Dossiers d'analyse*, page 48.
 - ▶ **Sample Sheet Folder** (Dossier des feuilles d'échantillons) : définit le dossier par défaut des feuilles d'échantillons. Les feuilles d'échantillons sont créées avant la préparation des bibliothèques et comportent les paramètres de l'analyse.

Consommables

Assurez-vous que les consommables suivants fournis par l'utilisateur sont disponibles avant de lancer une analyse.

Consommable	Fournisseur	Utilisation
Stock de NaOH 1,0 N, qualité biologie moléculaire	Fournisseur de laboratoire général	Dénaturation des bibliothèques d'échantillons et d'ADN de contrôle PhiX
Lingettes imbibées d'alcool isopropylique à 70 % ou Éthanol à 70 %	VWR, n° de référence 95041-714* Fournisseur de laboratoire général	Nettoyage du portoir de la Flow Cell
Gants jetables sans talc	Fournisseur de laboratoire général	Utilisation générale
Tissu de laboratoire non pelucheux	VWR, n° de référence 21905-026*	Nettoyage de la platine de la Flow Cell et de l'opercule en aluminium recouvrant le réservoir de chargement des échantillons
Papier pour lentilles, 10,1 × 15,2 cm (4 × 6 po)	VWR, n° de référence 52846-001	Nettoyage de la Flow Cell
Tubes microcentrifuges	Fournisseur de laboratoire général	Dénaturation et dilution des bibliothèques d'échantillons et d'ADN de contrôle PhiX
Tubes MiSeq	Illumina, référence MS-102-9999	Nettoyage de la ligne des modèles dans le cadre d'une utilisation du flux de travail VeriSeq PGS (facultatif pour les autres flux de travail)
NaOCl à 5 %	Sigma-Aldrich, n° de référence 239305*	Nettoyage de la ligne des modèles dans le cadre d'une utilisation du flux de travail VeriSeq PGS (facultatif pour les autres flux de travail)
Tween 20	Sigma-Aldrich, n° de référence P7949	Nettoyage de l'instrument

Consommable	Fournisseur	Utilisation
Brucelles en plastique à bout carré (facultatif)	McMaster-Carr, n° de référence 7003A22*	Retrait de la Flow Cell du contenant de livraison
Eau de laboratoire	Fournisseur de laboratoire général	Nettoyage de l'instrument

* ou équivalent de laboratoire

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

Chapitre 3 Séquençage

Introduction	15
Durée de l'analyse	15
Génération d'amplifiats	16
Séquençage	16
Analyse	16
Décongélation de la cartouche de réactifs	16
Inspection de la cartouche de réactifs	17
Dénaturer et diluer des librairies	17
Charger des librairies d'échantillons	18
Configurer une analyse à l'aide de MCS	18
Nettoyer la Flow Cell	20
Chargement de la Flow Cell	22
Chargement des réactifs	23
Démarrer l'analyse	25
Surveillance de l'analyse	26
Réalisation d'un lavage après analyse	28

Introduction

Pour exécuter une analyse de séquençage sur le système MiSeq, suivez les étapes de configuration décrites dans ce chapitre.

Il y a trois modes de configuration d'analyse :

- ▶ Local Run Manager : sélectionnez une analyse préparée par Local Run Manager.
- ▶ Sample Sheet (Feuille d'échantillons) : créez une analyse à l'aide de feuilles d'échantillons. Les feuilles d'échantillons sont validées dans Local Run Manager.
- ▶ Manual (Manuel) : créez une analyse en entrant manuellement jusqu'à 10 cycles pour chaque lecture. Aucune analyse secondaire n'est effectuée lorsque l'on choisit ce mode.

Après le lancement de l'analyse, aucune intervention supplémentaire de l'utilisateur n'est requise.

Surveillez l'analyse de séquençage à l'aide d'un des éléments suivants :

- ▶ BaseSpace Sequence Hub
- ▶ Sur l'instrument, à l'aide de l'écran Sequencing (Séquençage).
- ▶ À distance, à l'aide du visualiseur d'analyse de séquençage (SAV). Cette application facultative est disponible en téléchargement sur le site Web d'Illumina.
- ▶ À distance, à l'aide de Local Run Manager.

Une fois l'analyse de séquençage terminée, effectuez un lavage de l'instrument.

Durée de l'analyse

La durée de l'analyse dépend du nombre de cycles réalisés. Vous pouvez réaliser une analyse à lectures appariées comprenant jusqu'à 2 x 301 cycles de séquençage plus des lectures d'index avec MCS v2.3 ou les versions ultérieures.

En outre, la durée de l'analyse est fonction de la version des réactifs MiSeq utilisés et des mises à niveau améliorant les performances effectuées sur votre instrument.

Pour les durées attendues et autres spécifications, consultez la [page des spécifications du système MiSeq](#) 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. Le cycle supplémentaire est requis pour les calculs de mise en phase et en préphase.

Par exemple, une analyse de 300 cycles à lecture appariée effectue deux lectures de 301 cycles (2×301), pour un total de 602 cycles. À la fin de l'analyse, 2×300 cycles sont analysés.

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 en pont de façon à former des amplifiats.

Séquençage

Une fois les amplifiats générés, ils sont imagés à l'aide de combinaisons de DEL et de filtres propres à chacun des quatre didésoxyribonucléotides à marqueur fluorescent. Une fois l'imagerie d'une plaque terminée, la Flow Cell est déplacée de manière à exposer 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

Une fois l'analyse terminée, en mode Local Run Manager ou Sample Sheet (Feuille d'échantillons), le logiciel d'analyse Local Run Manager est lancé automatiquement pour effectuer l'analyse secondaire, qui comprend l'alignement et la définition des variants. Vous pouvez surveiller l'analyse secondaire depuis un autre ordinateur si vous disposez d'une connexion Internet. Pour plus de renseignements, consultez la section *Configurer l'option Local Run Manager*, page 18.

Décongélation de la cartouche de réactifs

Décongelez la cartouche de réactifs dans un bain d'eau à température ambiante.



REMARQUE

Vous pouvez également décongeler les réactifs pendant la nuit dans un lieu de stockage réfrigéré à une température maintenue entre 2 et 8 °C. Les réactifs conservent leur stabilité durant une semaine lorsqu'ils sont conservés à cette température.

- 1 Retirez la cartouche de réactifs de son lieu de stockage entre -25 et -15 °C.
- 2 Placez la cartouche de réactifs dans un bain d'eau contenant assez d'eau désionisée à température ambiante pour immerger la base de la cartouche de réactifs. L'eau ne doit pas dépasser la ligne limite d'eau imprimée sur la cartouche de réactifs.

Figure 7 Ligne de délimitation maximale de l'eau



- 3 Laissez la cartouche décongeler dans ce bain d'eau à température ambiante jusqu'à décongélation complète.
 - ▶ Cartouches MiSeq v3 : environ 60 à 90 minutes.
 - ▶ Cartouches MiSeq v2 : environ 60 minutes.
- 4 Retirez la cartouche du bain d'eau et tapotez-la doucement contre la paille pour retirer l'eau de la base de la cartouche. Séchez la base de la cartouche.

Inspection de la cartouche de réactifs

- 1 Retournez la cartouche de réactifs 10 fois pour mélanger les réactifs décongelés, puis vérifiez que toutes les positions sont décongelées.
- 2 Inspectez les réactifs des positions 1, 2 et 4 pour vous assurer qu'ils sont complètement mélangés et qu'ils ne contiennent pas de précipités.
- 3 Tapotez doucement la cartouche sur la paille pour éliminer les bulles d'air dans les réactifs.



REMARQUE

Comme les tubes des dispositifs d'aspiration MiSeq descendent au fond de chaque réservoir pour aspirer les réactifs, il est important qu'il ne reste aucune bulle d'air dans les réservoirs.

- 4 Placez la cartouche de réactifs sur la glace jusqu'à six heures ou réservez-la à une température comprise entre 2 °C et 8 °C jusqu'à ce que vous soyez prêt(e) à configurer l'analyse. Pour obtenir de meilleurs résultats, chargez directement l'échantillon et configurez l'analyse.



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.

Dénaturer et diluer des librairies

Si votre type de librairie l'exige, dénaturez et diluez les librairies puis ajoutez un contrôle PhiX facultatif. Consultez le *Guide de dénaturation et de dilution des librairies pour le système MiSeq (document n° 15039740)*. Si vous utilisez le flux de travail VeriSeq PGS, consultez le document *Guide de préparation de librairies VeriSeq PGS (document n° 15052877)*.

Cette étape ne s'applique pas à tous les types de librairie. Certaines méthodes de préparation d'échantillons Illumina permettent d'obtenir un ensemble de librairies dont la concentration est normalisée et prête à être utilisée. Reportez-vous au guide de préparation d'échantillons pour connaître la trousse utilisée pour préparer les librairies d'échantillons.



REMARQUE

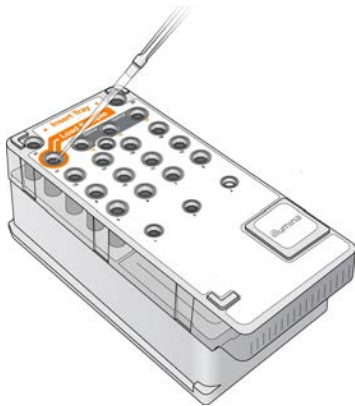
Si vous utilisez des primers personnalisés, préparez les primers et configurez la feuille d'échantillons comme indiqué dans le *Guide des primers personnalisés MiSeq (document n° 15041638)*.

Charger des bibliothèques d'échantillons

Lorsque la cartouche de réactifs est complètement décongelée et prête à l'emploi, chargez les bibliothèques préparées sur la cartouche.

- 1 Nettoyez l'opercule en aluminium couvrant le réservoir **Load Samples** (Charger les échantillons) à l'aide d'un chiffon de laboratoire peu pelucheux.
- 2 Perforez l'opercule en aluminium à l'aide d'une pipette propre de 1 ml.
- 3 À l'aide de la pipette, transférez 600 µl de bibliothèques préparées dans le réservoir **Load Samples** (Charger les échantillons). Évitez tout contact avec l'opercule en aluminium.

Figure 8 Chargement des bibliothèques



- 4 Passez directement à la configuration de l'analyse depuis l'interface du logiciel de commande de l'instrument MiSeq (MCS).

Configurer une analyse à l'aide de MCS

- 1 Dans le menu principal, sélectionnez **Reboot** (Redémarrer) pour redémarrer le logiciel du système.
- 2 **[Facultatif]** Dans l'onglet Folders (Dossiers), vérifiez l'emplacement du dossier des formules, des feuilles d'échantillons et des manifestes ainsi que du dossier MiSeqOutput. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Configurer les emplacements de dossiers par défaut*, page 13.
- 3 À l'écran d'accueil, sélectionnez **Sequence** (Séquencer) pour lancer les étapes de configuration de l'analyse.

Lorsque vous sélectionnez **Sequence** (Séquencer) à l'écran d'accueil, une série d'écrans de configuration d'analyse s'ouvre dans cet ordre : Sequence Mode Selection (Sélection du mode de séquençage), (Local Run Manager, Sample Sheet [Feuille d'échantillons], Manual [Manuel]), BaseSpace Option (Option BaseSpace), Load Flow Cell (Charger la Flow Cell), Load Reagents (Charger les réactifs), Review (Révision) et Pre-Run Check (Vérification avant analyse).

Configurer l'option Local Run Manager

- 1 À l'écran Home (Accueil), sélectionnez **Sequence** (Séquencer).
- 2 À l'écran Sequence Mode Selection (Sélection du mode de séquençage), sélectionnez **Local Run Manager**.

- 3 [Facultatif] À l'écran BaseSpace Options (Options BaseSpace), sélectionnez **Use BaseSpace™** (Utiliser BaseSpace^{MC}).
Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Définir l'option BaseSpace*, page 19.
- 4 Sélectionnez **Next** (Suivant).
- 5 Sélectionnez le nom d'une analyse dans la liste des analyses disponibles.
- 6 [Facultatif] Sélectionnez **Preview Samples** (Aperçu des échantillons) pour voir les échantillons associés à l'analyse.
- 7 Sélectionnez **Next** (Suivant) pour passer à l'étape de *Chargement de la Flow Cell*, page 22.



REMARQUE

Nettoyez les Flow Cell avant de les charger. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Nettoyer la Flow Cell*, page 20.

Sélection de l'option de feuille d'échantillons

- 1 À l'écran Home (Accueil), sélectionnez **Sequence** (Séquencer).
- 2 À l'écran Sequence Mode Selection (Sélection du mode de séquençage), sélectionnez **Sample Sheet** (Feuille d'échantillons).
- 3 [Facultatif] À l'écran BaseSpace Options (Options BaseSpace), sélectionnez **Use BaseSpace™** (Utiliser BaseSpace^{MC}).
Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Définir l'option BaseSpace*, page 19.
- 4 Sélectionnez **Next** (Suivant).
- 5 Cherchez et sélectionnez le fichier de feuille d'échantillons.
Le fichier est envoyé à Local Run Manager aux fins de la validation ou de la création de l'analyse.
- 6 [Facultatif] Sélectionnez **Disable Local Run Manager Secondary Analysis** (Désactiver l'analyse secondaire par Local Run Manager) pour contourner l'analyse secondaire par Local Run Manager.
- 7 Corrigez toutes les erreurs dans votre feuille d'échantillons.
- 8 Sélectionnez **Next** (Suivant) pour passer à l'étape de *Chargement de la Flow Cell*, page 22.



REMARQUE

Nettoyez les Flow Cell avant de les charger. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Nettoyer la Flow Cell*, page 20.

Définir l'option BaseSpace

Exécuter une analyse secondaire facultative à l'aide de BaseSpace.

Si les modes de séquençage Local Run Manager ou Sample Sheet (Feuille d'échantillons) sont sélectionnés, vous pouvez aussi effectuer l'analyse secondaire à l'aide de BaseSpace.

- 1 À l'écran BaseSpace Options (Options BaseSpace), sélectionnez **Use BaseSpace™** (Utiliser BaseSpace^{MC}).
Si cette option est choisie, les données brutes de l'analyse seront également stockées sur l'instrument MiSeq.

- 2 Sélectionnez l'une des options suivantes :
 - ▶ Envoyer toutes les données de l'analyse à BaseSpace Sequence Hub pour une surveillance et une analyse des données à distance.
 - ▶ N'envoyer que les fichiers de renseignements sur l'analyse à BaseSpace Sequence Hub de manière à pouvoir surveiller les analyses à distance.
- 3 Entrez vos identifiants de compte Myllumina.
- 4 Sélectionnez **Next** (Suivant).

Configurer le mode manuel

- 1 À l'écran Home (Accueil), sélectionnez **Sequence** (Séquencer).
- 2 À l'écran Sequence Mode Selection (Sélection du mode de séquençage), sélectionnez **Manual** (Manuel).
- 3 [Facultatif] Sélectionnez **Use run monitoring only** (Utiliser la surveillance de l'analyse seulement), puis saisissez vos identifiants Myllumina.



REMARQUE

L'option d'analyse et de stockage de BaseSpace Sequence Hub ne peut pas être utilisée en mode manuel.

- 4 Sélectionnez **Next** (Suivant).
- 5 Configurez les paramètres Read Type (Type de lecture), Read Length (Longueur de lecture) et Custom Primers (Primers personnalisés) pour tous les cycles. Saisissez jusqu'à 10 cycles par lecture d'index.
- 6 Sélectionnez **Next** (Suivant) pour passer à l'étape de *Chargement de la Flow Cell*, page 22.



REMARQUE

Nettoyez les Flow Cell avant de les charger. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Nettoyer la Flow Cell*, page 20.

Nettoyer la Flow Cell

- 1 Enfilez une nouvelle paire de gants sans talc.
- 2 Retirez la Flow Cell de son contenant spécial en la tenant par la base de la cartouche en plastique à l'aide d'une pince en plastique.

Figure 9 Retrait de la Flow Cell



- 3 Rincez légèrement la Flow Cell avec de l'eau de laboratoire jusqu'à ce que l'excès de sels ait été entièrement retiré des parties en verre et en plastique de la cartouche.

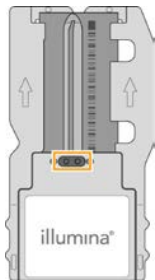
Un excès de sels peut avoir une incidence sur la fixation de la Flow Cell sur l'instrument. L'imagerie peut également être atteinte si les sels sèchent dans la zone d'imagerie.

Figure 10 Rinçage de la Flow Cell



- 4 Procédez avec soin autour du joint de port noir de la Flow Cell et séchez la Flow Cell et la cartouche soigneusement à l'aide d'un chiffon non pelucheux pour nettoyage de lentilles. Séchez doucement la zone autour du joint et du verre en tapotant.

Figure 11 Ports et joint de la Flow Cell



- 5 Nettoyez le verre de la Flow Cell à l'aide d'une lingette alcoolisée. Veillez à ne pas laisser d'empreintes ou de marques sur le verre ni de peluches ou de fibres textiles.



REMARQUE

Ne nettoyez pas le joint de port de la Flow Cell avec une lingette alcoolisée.

Figure 12 Séchage de la Flow Cell

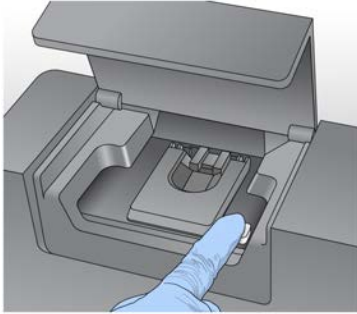


- 6 Séchez l'excès d'alcool avec un chiffon non pelucheux pour nettoyage de lentilles.
- 7 Assurez-vous que les ports de la Flow Cell ne sont pas obstrués et que le joint qui les entoure est correctement fixé.
Si le joint semble délogé, remettez-le en place en appuyant doucement jusqu'à ce qu'il protège entièrement les ports de la Flow Cell.

Chargement de la Flow Cell

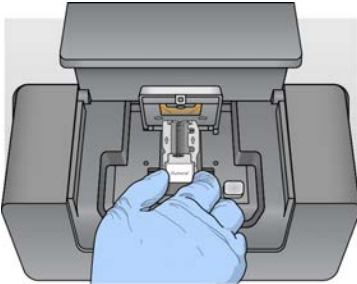
- 1 Relevez la porte du compartiment de la Flow Cell, puis appuyez sur la touche de déverrouillage située à droite de la pince de la Flow Cell. La pince de la Flow Cell s'ouvre.

Figure 13 Ouverture de la pince de la Flow Cell



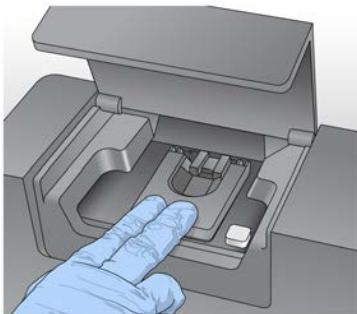
- 2 Assurez-vous que la platine de la Flow Cell ne contient pas de peluches. Si des peluches ou d'autres poussières sont présentes, nettoyez la platine de la Flow Cell à l'aide d'une lingette alcoolisée ou d'un chiffon non pelucheux imprégné d'éthanol ou d'isopropanol. Nettoyez soigneusement la surface de la platine de la Flow Cell jusqu'à ce qu'elle soit propre et sèche.
- 3 Placez la Flow Cell sur sa platine en la tenant par les bords.

Figure 14 Installation de la Flow Cell sur la platine



- 4 Appuyez doucement sur la pince de la Flow Cell pour la refermer sur la Flow Cell. Lorsque la pince de la Flow Cell s'enclenche, les broches d'alignement positionnent la Flow Cell. Un clic sonore indique que la pince de la Flow Cell est verrouillée.

Figure 15 Fermeture de la pince de la Flow Cell



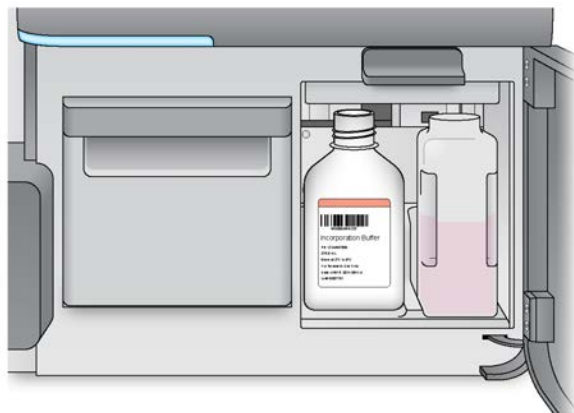
- 5 Si le logiciel n'identifie pas la RFID de la Flow Cell, consultez la section *Résolution des échecs de lecture RFID*, page 44.
- 6 Fermez la porte du compartiment de la Flow Cell.
- 7 Sélectionnez **Next** (Suivant).

Chargement des réactifs

Charger le flacon de PR2 et vérifier le flacon à déchets

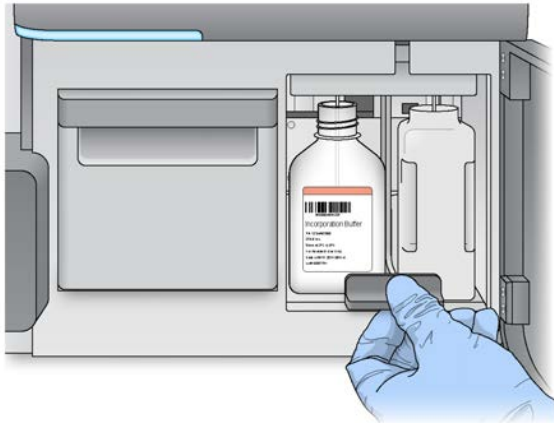
- 1 Retirez le flacon de PR2 de son lieu de stockage réfrigéré à une température maintenue entre 2 et 8 °C. Renversez pour mélanger, puis retirez le couvercle.
- 2 Ouvrez la porte du compartiment des réactifs.
- 3 Levez la poignée du dispositif d'aspiration jusqu'à ce qu'elle se verrouille.
- 4 Retirez le flacon de lavage et chargez le flacon de PR2.

Figure 16 Chargement du flacon de PR2



- 5 Videz le contenu du flacon à déchets dans un conteneur à déchets approprié.
- 6 Abaissez doucement la poignée du dispositif d'aspiration. Vérifiez que les dispositifs d'aspiration descendent dans le flacon de PR2 et le flacon à déchets.

Figure 17 Abaissement de la poignée du dispositif d'aspiration



- 7 Si le logiciel n'identifie pas la RFID du flacon de PR2, consultez la section *Résolution des échecs de lecture RFID*, page 44.
- 8 Sélectionnez **Next** (Suivant).

Charger la cartouche de réactifs

- 1 Ouvrez la porte du réfrigérateur pour réactifs.



REMARQUE

Ne laissez pas la porte du réfrigérateur pour réactifs ouverte pendant une période prolongée.

- 2 Tenez la cartouche de réactifs par l'extrémité comportant l'étiquette Illumina et faites-la glisser dans le réfrigérateur pour réactifs jusqu'à ce qu'elle s'arrête.
Utilisez toujours la cartouche de réactifs associée au type de Flow Cell que vous avez chargé. Si la cartouche de réactifs n'est pas compatible, un message apparaît sur l'écran. Sélectionnez **Back** (Retour) pour charger la bonne cartouche de réactifs ou **Home** (Accueil) pour revenir à l'écran d'accueil.

Figure 18 Charger la cartouche de réactifs



- 3 Fermez la porte du réfrigérateur pour réactifs.
- 4 Si le logiciel n'identifie pas l'étiquette RFID de la cartouche de réactifs, consultez la section *Résolution des échecs de lecture RFID*, page 44.

- 5 Si la cartouche de réactifs n'est pas compatible avec la Flow Cell, un message s'affiche. Sélectionnez **Back** (Retour) pour charger une cartouche compatible ou **Exit** (Quitter) pour revenir à l'écran d'accueil.
- 6 Fermez la porte du compartiment des réactifs.
- 7 Sélectionnez **Next** (Suivant).

Démarrer l'analyse

Après le chargement de la Flow Cell et des réactifs, contrôlez les paramètres d'analyse et effectuez une vérification avant de commencer l'analyse.



REMARQUE

L'analyse est lancée automatiquement si l'option **Start run after pre-run check** (Lancer l'analyse après la vérification avant analyse) a été sélectionnée dans la section Run Settings (Paramètres de l'analyse). Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Personnaliser les paramètres du système*, page 11.

Vérification des paramètres de l'analyse

- 1 Vérifiez les paramètres Experiment Name (Nom de l'expérience), Module Name (Nom du module), Read Type (Type de lecture), Read Length (Longueur de lecture) et Custom Primers (Primers personnalisés). Ces paramètres sont spécifiés dans la feuille d'échantillons.
- 2 **[Facultatif]** Dans Local Run Manager ou en mode manuel, sélectionnez **Edit** (Modifier) pour modifier les paramètres Read Type (Type de lecture), Read Length (Longueur de lecture) ou Custom Primers (Primers personnalisés), puis sélectionnez **Save (Enregistrer)**.



REMARQUE

Les modifications à apporter aux index doivent être saisies dans la feuille d'échantillons. En mode Sample Sheet (Feuille d'échantillons), les modifications doivent être apportées à la feuille d'échantillons d'origine; cette dernière doit ensuite être rechargée.

- 3 Sélectionnez **Change Folder** (Changer de dossier) pour examiner l'emplacement des dossiers.
- 4 Apportez les modifications nécessaires, puis sélectionnez **Save and Continue** (Enregistrer et continuer).
- 5 Sélectionnez **Next** (Suivant).

Modifier les dossiers

Pour modifier ces dossiers, sélectionnez **Change Folder** (Modifier le dossier) et naviguez jusqu'à l'emplacement de votre choix. Cette option de l'écran Review (Révision) modifie l'emplacement des dossiers pour toutes les analyses subséquentes.

Vérification avant analyse

Le système effectue une vérification de tous les composants de l'analyse, de l'espace disque et des connexions réseau avant de commencer l'analyse.

Si des éléments ne passent pas la vérification avant analyse, un message contenant des instructions pour corriger l'erreur apparaît à l'écran. Pour plus de renseignements, consultez la section *Résolution des erreurs de configuration de l'analyse*, page 44.

Si tous les éléments passent la vérification avant analyse, sélectionnez **Start Run** (Démarrer l'analyse).

Remarques importantes avant le lancement de l'analyse



AVERTISSEMENT

Le système MiSeq est sensible aux vibrations. Tout contact avec l'instrument après le lancement de l'analyse peut avoir une incidence néfaste sur les résultats de séquençage.

Après avoir sélectionné **Start Run** (Démarrer l'analyse), n'ouvrez pas les portes du compartiment de la Flow Cell ou du compartiment des réactifs et ne touchez pas l'écran de l'instrument à moins de vouloir interrompre l'analyse. Pour plus de renseignements, consultez la section *Interrompre une analyse*, page 43.



AVERTISSEMENT

Prenez soin de fermer tous les fichiers sur l'instrument MiSeq avant de commencer une analyse et n'ouvrez pas de fichiers pendant l'analyse.

Surveillance de l'analyse

Surveillez la progression de l'analyse en cours à l'aide de l'écran Sequencing (Séquençage) sur l'instrument. L'écran Sequencing (Séquençage) est en affichage seul.

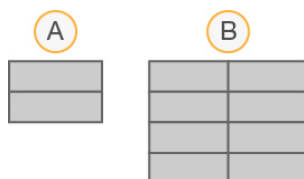
Autres options permettant de surveiller une analyse :

- ▶ Visualiseur d'analyse de séquençage (SAV) installé sur un ordinateur indépendant de l'ordinateur de l'instrument. Une connexion réseau est requise. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Sequencing Analysis Viewer*, page 8. Si vous êtes connecté(e) à BaseSpace, il est aussi possible de surveiller l'analyse à l'aide du logiciel SAV dans BaseSpace.
 - ▶ Local Run Manager pour surveiller l'analyse à distance si l'instrument est connecté au même réseau. Local Run Manager affiche la progression de l'analyse et l'information de séquençage (Total d'amplifiats, % d'amplifiats passant le filtre, lecture 1 et lecture 2 % \geq Q30, et dernier cycle évalué). Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Logiciel Local Run Manager*, page 7.
- 1 À l'écran Sequencing (Séquençage) de l'instrument, surveillez la progression de l'analyse, les intensités et les scores de qualité.

- ▶ **Run Progress** (Progression de l'analyse) : indique la progression de l'analyse dans une barre d'état, ainsi que le nombre de cycles terminés.
- ▶ **Intensity** (Intensité) : indique la valeur des intensités d'amplifiats du 90^e percentile pour chaque plaque.

Le graphique qui se trouve dans la zone Intensity (Intensité) représente le nombre de plaques et le nombre de surfaces mises en image :

- ▶ Si seule la surface supérieure de la Flow Cell est mise en image, un graphique à une seule colonne apparaît.
- ▶ Si les surfaces supérieure et inférieure de la Flow Cell sont mises en image, un graphique à deux colonnes apparaît.



- A Indique deux plaques, surface supérieure uniquement
- B Indique quatre plaques, surfaces supérieure et inférieure

- ▶ **Q-Score All Cycles** (Score de qualité de tous les cycles) : indique le pourcentage moyen des bases supérieures à Q30, qui constitue une mesure de score de qualité. Un score de qualité représente la probabilité d'obtenir une définition des bases erronée. Les scores de qualité sont calculés après le cycle 25.

Score de qualité	Probabilité de définition de bases erronée
Q40	1 sur 10 000
Q30	1 sur 1 000
Q20	1 sur 100
Q10	1 sur 10

- ▶ **Cluster Density (K/mm²)** (Densité des amplifiats [K/mm²]) : indique le nombre d'amplifiats par millimètre carré pour l'analyse.
- ▶ **Clusters Passing Filter (%)** (Amplifiats passant le filtre [%]) : indique le pourcentage d'amplifiats franchissant le filtre en fonction du filtre de pureté d'Illumina, qui mesure la qualité des images. Ces données apparaissent uniquement après le cycle 25.



REMARQUE

La pureté d'une définition de bases correspond au rapport de l'intensité du signal le plus élevé divisée par la somme des deux signaux les plus élevés. Les lectures ne passent pas le filtre de qualité si la valeur de pureté de plus d'une définition de bases est inférieure à 0,6 dans les 25 premiers cycles.

- ▶ **Estimated Yield (Mb)** [Rendement estimé (Mb)] : indique le nombre de bases définies pour l'analyse, en mégabases. Ces données apparaissent uniquement après le cycle 25.
- 2 À la fin de l'analyse, le bouton Next (Suivant) apparaît. Vérifiez les résultats à l'écran Sequencing (Séquençage) avant de continuer.



REMARQUE

Cet écran reste visible jusqu'à ce que Next (Suivant) soit sélectionné. Après la sélection de Next (Suivant), vous ne pouvez plus revenir à l'écran Sequencing (Séquençage).

- 3 Sélectionnez **Next** (Suivant) pour quitter l'écran Sequencing (Séquençage) et procéder à un lavage après analyse.

Génération du modèle

La génération du modèle est le procédé par lequel les positions des amplifiats sur la surface entière de la Flow Cell sont définies selon des coordonnées X et Y. Le module d'analyse en temps réel (RTA) utilise les premiers cycles de l'analyse pour la génération du modèle.

Les images produites par chaque cycle d'imagerie suivant sont alignées sur le modèle de positions des amplifiats généré. Les intensités individuelles des amplifiats sont extraites dans les quatre canaux de couleur de nucléotides et les définitions des bases sont créées à partir des intensités normalisées des amplifiats.

Indicateurs de l'analyse

Les indicateurs de l'analyse apparaissent à l'écran Sequencing (Séquençage) à différents moments de l'analyse. Lors des étapes de génération des amplifiats, aucun indicateur n'apparaît.

Après le début du séquençage, les indicateurs suivants apparaissent lors des cycles indiqués :

Indicateur	Trousse	Cycle
Intensité	Trousses de réactifs MiSeq, v3 Trousses de réactifs MiSeq, v2	Cycles 1 à 7 Cycles 1 à 4 Cycles 1 à 4
Intensité et densité des amplifiats	Trousses de réactifs MiSeq, v3 Trousses de réactifs MiSeq, v2	Cycles 8 à 25 Cycles 5 à 25 Cycles 5 à 25
Intensité, densité des amplifiats, % passant le filtre, rendement et scores de qualité	Trousses de réactifs MiSeq, v3 Trousses de réactifs MiSeq, v2	Cycle 26 jusqu'à la fin de l'analyse

Pour obtenir les spécifications de l'analyse MiSeq, visitez la page de spécifications du système MiSeq sur le site Web d'Illumina (www.illumina.com/systems/miseq/performance_specifications.ilmn).

Résultats d'analyse RTA

Le résultat de l'analyse en temps réel (RTA) d'une analyse de séquençage est un ensemble de fichiers de définition des bases dont la qualité est notée (fichiers *.bcl) et qui sont créés à partir des fichiers d'images bruts. Pour obtenir une liste des fichiers et dossiers RTA, consultez la section *Dossiers et fichiers RTA*, page 50.

Réalisation d'un lavage après analyse

Le lavage après analyse est le lavage standard de l'instrument réalisé entre les analyses de séquençage. Procédez toujours au lavage de l'instrument après une analyse. Suivez les indications du logiciel pour charger les composants de lavage et réaliser le lavage. Le lavage après analyse dure approximativement 20 minutes.

Commencez le lavage immédiatement après la fin d'une analyse. Le lavage de l'instrument est nécessaire pour pouvoir configurer une analyse ultérieure. Pour effectuer un lavage après analyse à un autre moment que directement après une analyse, utilisez la commande à l'écran Perform Wash (Procéder au lavage) pour démarrer le lavage.



REMARQUE

Laissez la Flow Cell usagée dans l'instrument. Pour procéder au lavage de l'instrument, celui-ci doit contenir une Flow Cell.

Les lavages réguliers de l'instrument assurent des performances continues de la manière suivante :

- ▶ Ils éliminent tous les réactifs restants dans les lignes fluidiques et les dispositifs d'aspiration.
- ▶ Ils préviennent l'accumulation de sels et la cristallisation dans les lignes fluidiques et les dispositifs d'aspiration.
- ▶ Ils évitent la contamination croisée depuis une analyse précédente.

Si vous utilisez MCS v2.5 ou une version ultérieure, une option permettant de procéder à un lavage après analyse qui comprend un lavage de la ligne des modèles à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl) vous est proposée. Le lavage dure environ 30 minutes. Consultez la section *Procédure incluant le lavage de la ligne des modèles*, page 30.



REMARQUE

Si vous utilisez le flux de travail VeriSeq PGS, effectuez un lavage après analyse comprenant le lavage de la ligne des modèles. Consultez la section *Procédure incluant le lavage de la ligne des modèles*, page 30.

Consommables

- ▶ Tween 20
- ▶ Eau de laboratoire
- ▶ NaOCl (à utiliser lors d'un lavage après analyse comprenant un lavage de la ligne des modèles)
- ▶ Tube MiSeq (référence MS-102-9999) (pour les lavages après analyse comprenant un lavage de la ligne des modèles)

Procédure

- 1 Préparez une nouvelle solution de lavage avec du Tween 20 et de l'eau de laboratoire :
 - a Ajoutez 5 ml de Tween 20 à 100 % dans 45 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir du Tween 20 à 10 %.
 - b Ajoutez 25 ml de Tween 20 à 100 % dans 475 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir une solution de lavage de Tween 20 à 0,5 %.
 - c Retournez cinq fois pour mélanger.
- 2 Préparez les composants de lavage avec la nouvelle solution de lavage :
 - a Ajoutez 6 ml de solution de lavage dans chaque réservoir du plateau de lavage.
 - b Ajoutez 350 ml de solution de lavage dans le flacon de lavage de 500 ml.
- 3 Une fois l'analyse terminée, sélectionnez **Start Wash** (Démarrer le lavage).
Le logiciel lève automatiquement les dispositifs d'aspiration dans le réfrigérant pour réactifs.
Ne sélectionnez pas Perform optional template line wash (Procéder au lavage facultatif de la ligne des modèles) à l'écran Post-Run Wash (Lavage après analyse). Le lavage de la ligne de modèle requiert l'exécution d'une autre procédure. Consultez la section *Procédure incluant le lavage de la ligne des modèles*, page 30.
- 4 Ouvrez la porte du compartiment des réactifs et celle du réfrigérant pour réactifs, puis faites glisser la cartouche de réactifs usagée du réfrigérant.
- 5 Faites glisser le plateau de lavage dans le réfrigérant pour réactifs jusqu'à ce qu'il s'arrête, puis fermez la porte du réfrigérant pour réactifs.
- 6 Soulevez la poignée des dispositifs d'aspiration du flacon de PR2 et du flacon à déchets jusqu'à ce qu'elle se verrouille.
- 7 Retirez le flacon de PR2 et remplacez-le par le flacon de lavage.



REMARQUE

Jetez le flacon de PR2 après chaque analyse. Ne réutilisez pas le PR2 restant.

- 8 Retirez le flacon à déchets et jetez son contenu de manière appropriée. Remettez le flacon à déchets dans le compartiment des réactifs.



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.

- 9 Abaissez doucement la poignée des dispositifs d'aspiration en veillant à ce que les dispositifs d'aspiration descendent dans le flacon de lavage et le flacon à déchets.
- 10 Fermez la porte du compartiment des réactifs.
- 11 Sélectionnez **Next** (Suivant).

Une fois le lavage terminé, laissez la Flow Cell usagée, le plateau de lavage et le flacon de lavage qui contient le reste de la solution de lavage sur l'instrument.



REMARQUE

Les dispositifs d'aspiration restent en position basse, ce qui est normal. Laissez la solution de lavage inutilisée sur le plateau de lavage et dans le flacon de lavage afin d'empêcher les dispositifs d'aspiration de se dessécher et l'air de pénétrer dans le système.

Procédure incluant le lavage de la ligne des modèles

- 1 Préparez une nouvelle solution de lavage avec du Tween 20 et de l'eau de laboratoire :
 - a Ajoutez 5 ml de Tween 20 à 100 % dans 45 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir du Tween 20 à 10 %.
 - b Ajoutez 25 ml de Tween 20 à 10 % dans 475 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir une solution de lavage de Tween 20 à 0,5 %.
 - c Retournez cinq fois pour mélanger.
- 2 Préparez une nouvelle solution de lavage au NaOCl avec de l'eau de laboratoire :
 - a Ajoutez 36 µl de NaOCl à 5 % à 864 µl d'eau de laboratoire. Ces volumes permettront d'obtenir une dilution de NaOCl à 1:25.
 - b Ajoutez 50 µl de la dilution de NaOCl à 1:25 à 950 µl d'eau de laboratoire dans un tube MiSeq (référence MS-102-9999).



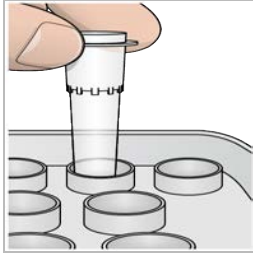
REMARQUE

Il est important d'utiliser la bonne concentration de NaOCl. Vérifiez le pourcentage de NaOCl sur l'étiquette du produit. Si la concentration est trop élevée, la génération d'amplifiats peut échouer lors des analyses suivantes. Si vous ne disposez pas de NaOCl à 5 %, préparez 1 ml de solution de NaOCl à 0,01 % dans de l'eau de laboratoire. **N'utilisez pas** de NaOCl lors d'un lavage de maintenance ou d'un lavage de mise en veille.

- 3 Préparez les composants de lavage avec la nouvelle solution de lavage :
 - a Ajoutez 6 ml de solution de lavage dans chaque réservoir du plateau de lavage.
 - b Ajoutez 350 ml de solution de lavage dans le flacon de lavage de 500 ml.

- 4 Insérez le tube MiSeq qui contient la solution de lavage au NaOCl à 0,01 % dans la position 17 du plateau de lavage jusqu'à ce que le col du tube soit à la même hauteur que le plateau. Le tube déplace de la position 17 la solution de lavage à base de Tween 20 et d'eau de laboratoire.

Figure 19 Tube MiSeq à la position 17 du plateau de lavage



REMARQUE

Veillez à insérer le tube MiSeq contenant le NaOCl à la position 17 du plateau seulement. L'insertion du tube à une autre position pourrait entraîner l'échec de la génération d'amplifiats lors des analyses suivantes et endommager le système fluide de l'instrument MiSeq.

- 5 Une fois l'analyse terminée, sélectionnez **Start Wash** (Démarrer le lavage). Le logiciel lève automatiquement les dispositifs d'aspiration dans le réfrigérant pour réactifs.
- 6 Sélectionnez **Perform optional template line wash** (Procéder au lavage facultatif de la ligne des modèles) à l'écran Post-Run Wash (Lavage après analyse).
Lorsque vous utilisez le flux de travail VeriSeq PGS, l'option **Perform optional template line wash** (Réaliser un lavage de la ligne des modèles facultatif) est présélectionnée. Le logiciel MCS assure le suivi du type de lavage effectué après chaque analyse. Si vous ne sélectionnez pas l'option **Perform optional template line wash** (Procéder au lavage facultatif de la ligne de modèle) pour le lavage après analyse, un message s'affichera à l'écran Run Review (Vérification de l'analyse) la prochaine fois que vous lancerez une analyse de séquençage.
- 7 Ouvrez la porte du compartiment des réactifs et celle du réfrigérant pour réactifs, puis faites glisser la cartouche de réactifs usagée du réfrigérant.
- 8 Faites glisser le plateau de lavage dans le réfrigérant pour réactifs jusqu'à ce qu'il s'arrête, puis fermez la porte du réfrigérant pour réactifs.
- 9 Soulevez la poignée des dispositifs d'aspiration du flacon de PR2 et du flacon à déchets jusqu'à ce qu'elle se verrouille.
- 10 Retirez le flacon de PR2 et remplacez-le par le flacon de lavage.



REMARQUE

Jetez le flacon de PR2 après chaque analyse. Ne réutilisez pas le PR2 restant.

- 11 Retirez le flacon à déchets et jetez son contenu de manière appropriée. Remettez le flacon à déchets dans le compartiment des réactifs.



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.

- 12 Abaissez doucement la poignée des dispositifs d'aspiration en veillant à ce que les dispositifs d'aspiration descendent dans le flacon de lavage et le flacon à déchets.
- 13 Fermez la porte du compartiment des réactifs.
- 14 Sélectionnez **Next** (Suivant).

Une fois le lavage terminé, laissez la Flow Cell usagée, le plateau de lavage et le flacon de lavage qui contient le reste de la solution de lavage sur l'instrument.



REMARQUE

Les dispositifs d'aspiration restent en position basse. Laissez la solution de lavage inutilisée sur le plateau de lavage et dans le flacon de lavage, afin d'empêcher les dispositifs d'aspiration de se dessécher et l'air de pénétrer dans le système.

Chapitre 4 Maintenance

Fréquence de maintenance	33
Fréquence de maintenance du flux de travail VeriSeq PGS	33
Réaliser un lavage de maintenance	34
Réalisation d'un lavage de mise en veille	36
Gérer les fichiers	38
Mises à jour logicielles	39
Arrêt de l'instrument	40

Fréquence de maintenance

Effectuez les procédures de maintenance suivantes aux intervalles recommandés.



REMARQUE

Si vous utilisez le flux de travail VeriSeq PGS, veillez à suivre les instructions relatives à la fréquence de maintenance VeriSeq PGS. Consultez la section *Fréquence de maintenance du flux de travail VeriSeq PGS*, page 33.

Tableau 2 Maintenance en fonctionnement normal

Activité	Fréquence
Lavage après analyse	Après chaque analyse
Lavage de maintenance	Mensuellement
Lavage de mise en veille	Pour préparer l'instrument au mode inactif (en cas de non-utilisation pendant sept jours ou plus) et tous les 30 jours lorsque l'instrument reste inactif
Arrêt de l'instrument	Au besoin

Tableau 3 Maintenance durant le mode Inactif (non-utilisation pendant sept jours ou plus)

Activité	Fréquence
Lavage de mise en veille	Mensuellement
Arrêt de l'instrument	Au besoin

Fréquence de maintenance du flux de travail VeriSeq PGS

Si vous utilisez le flux de travail VeriSeq PGS, effectuez les procédures de maintenance suivantes aux intervalles recommandés.

Tableau 4 Maintenance en fonctionnement normal

Activité	Fréquence
Lavage après analyse	Après chaque analyse
Lavage de maintenance	Mensuellement
Lavage après analyse à partir de l'écran Perform Wash (Procéder au lavage)	Après une période en mode inactif (non utilisé pendant plus de trois jours)
Lavage de mise en veille	Pour préparer l'instrument au mode inactif (en cas de non-utilisation pendant sept jours ou plus) et tous les 30 jours lorsque l'instrument reste inactif
Arrêt de l'instrument	Au besoin

Tableau 5 Maintenance durant le mode Inactif (non-utilisation pendant sept jours ou plus)

Activité	Fréquence
Lavage de mise en veille	Mensuellement
Arrêt de l'instrument	Au besoin

Réaliser un lavage de maintenance

Effectuez un lavage de maintenance tous les 30 jours pour garantir des performances optimales.

Le lavage de maintenance dure environ 90 minutes. Le lavage comprend trois étapes permettant de rincer entièrement le système.

Vous pouvez configurer votre instrument pour effectuer un lavage de maintenance entre les analyses. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Personnaliser les paramètres du système*, page 11.

Consommables fournis par l'utilisateur

- ▶ Tween 20 (Sigma-Aldrich, n° de référence P7949)
- ▶ Eau de laboratoire

Procédure

- 1 Assurez-vous qu'une Flow Cell usagée est chargée dans l'instrument.
- 2 À l'écran d'accueil, sélectionnez **Perform Wash** (Procéder au lavage).
- 3 À l'écran Perform Wash (Procéder au lavage), sélectionnez **Perform Maintenance Wash** (Réaliser un lavage de maintenance).
Le logiciel lève automatiquement les dispositifs d'aspiration dans le réfrigérant pour réactifs.

Procédez au premier lavage

- 1 Préparez une nouvelle solution de lavage avec du Tween 20 et de l'eau de laboratoire :
 - a Ajoutez 5 ml de Tween 20 à 100 % dans 45 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir du Tween 20 à 10 %.
 - b Ajoutez 25 ml de Tween 20 à 10 % dans 475 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir une solution de lavage de Tween 20 à 0,5 %.
 - c Retournez cinq fois pour mélanger.
- 2 Préparez les composants de lavage avec la nouvelle solution de lavage :
 - a Ajoutez 6 ml de solution de lavage dans chaque réservoir du plateau de lavage.
 - b Ajoutez 350 ml de solution de lavage dans le flacon de lavage de 500 ml.
- 3 Chargez le plateau de lavage et le flacon de lavage dans l'instrument :
 - a Ouvrez la porte du compartiment des réactifs et la porte du réfrigérant pour réactifs, et faites glisser la cartouche de réactifs usagée ou le plateau de lavage hors du compartiment réfrigéré.
 - b Faites glisser le plateau de lavage dans le réfrigérant pour réactifs jusqu'à ce qu'il s'arrête. Fermez la porte du réfrigérant pour réactifs.
 - c Soulevez la poignée des dispositifs d'aspiration située en face du flacon de PR2 et du flacon à déchets jusqu'à ce qu'elle se verrouille, puis remplacez le flacon de PR2 par le flacon de lavage.



REMARQUE

Jetez le flacon de PR2 après chaque analyse. Ne réutilisez pas le PR2 restant.

- a Retirez le flacon à déchets et jetez son contenu de manière appropriée. Remettez le flacon à déchets dans le compartiment des réactifs.
 - b Abaissez doucement la poignée des dispositifs d'aspiration en veillant à ce que les dispositifs d'aspiration descendent dans le flacon de lavage et le flacon à déchets.
 - c Fermez la porte du compartiment des réactifs.
- 4 Sélectionnez **Next** (Suivant). Le premier lavage est lancé.

Procédez au second lavage

Utilisez une nouvelle solution de lavage à chaque étape du lavage. Le fait de réutiliser la solution de lavage du lavage précédent peut renvoyer des déchets dans les lignes fluidiques.

- 1 Préparez une nouvelle solution de lavage avec du Tween 20 et de l'eau de laboratoire comme suit :
 - a Ajoutez 5 ml de Tween 20 à 100 % dans 45 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir du Tween 20 à 10 %.
 - b Ajoutez 25 ml de Tween 20 à 10 % dans 475 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir une solution de lavage de Tween 20 à 0,5 %.
 - c Retournez cinq fois pour mélanger.
- 2 Une fois le premier lavage terminé, retirez le plateau de lavage et le flacon de lavage, puis jetez la solution de lavage restante.
- 3 Remplissez les composants de lavage avec la nouvelle solution de lavage, comme suit :
 - a Ajoutez 6 ml de solution de lavage dans chaque réservoir du plateau de lavage.
 - b Ajoutez 350 ml de solution de lavage dans le flacon de lavage de 500 ml.
- 4 Chargez le plateau de lavage et le flacon de lavage, comme suit :
 - a Faites glisser le plateau de lavage dans le réfrigérant pour réactifs jusqu'à ce qu'il s'arrête. Fermez la porte du réfrigérant pour réactifs.
 - b Chargez le flacon de lavage et abaissez doucement la poignée des dispositifs d'aspiration en veillant à ce que ces derniers descendent dans le flacon de lavage et le flacon à déchets.
 - c Fermez la porte du compartiment des réactifs.
- 5 Sélectionnez **Next** (Suivant). Le second lavage est lancé.

Procédez au lavage final

- 1 Préparez une nouvelle solution de lavage avec du Tween 20 et de l'eau de laboratoire :
 - a Ajoutez 5 ml de Tween 20 à 100 % dans 45 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir du Tween 20 à 10 %.
 - b Ajoutez 25 ml de Tween 20 à 10 % dans 475 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir une solution de lavage de Tween 20 à 0,5 %.
 - c Retournez cinq fois pour mélanger.
- 2 À la fin du second lavage, retirez le plateau de lavage et le flacon de lavage, puis jetez la solution de lavage restante.

- 3 Remplissez les composants de lavage avec la nouvelle solution de lavage :
 - a Ajoutez 6 ml de solution de lavage dans chaque réservoir du plateau de lavage.
 - b Ajoutez 350 ml de solution de lavage dans le flacon de lavage de 500 ml.
- 4 Chargez le plateau de lavage et le flacon de lavage :
 - a Faites glisser le plateau de lavage dans le réfrigérant pour réactifs jusqu'à ce qu'il s'arrête. Fermez la porte du réfrigérant pour réactifs.
 - b Chargez le flacon de lavage et abaissez doucement la poignée des dispositifs d'aspiration en veillant à ce que ces derniers descendent dans le flacon de lavage et le flacon à déchets.
 - c Fermez la porte du compartiment des réactifs.
- 5 Sélectionnez **Next** (Suivant). Le lavage final est lancé.

Après le lavage

Une fois le lavage terminé, laissez la Flow Cell usagée, le plateau de lavage et le flacon de lavage qui contient le reste de la solution de lavage sur l'instrument.



REMARQUE

Les dispositifs d'aspiration restent en position basse, ce qui est normal. Laissez la solution de lavage inutilisée sur le plateau de lavage et dans le flacon de lavage afin d'empêcher les dispositifs d'aspiration de se dessécher et l'air de pénétrer dans le système.

Réalisation d'un lavage de mise en veille

Lorsque vous ne prévoyez pas d'utiliser l'instrument dans les sept prochains jours, préparez l'instrument et ses lignes fluidiques pour cette période d'inactivité en réalisant un lavage de mise en veille. Réalisez un lavage de mise en veille tous les 30 jours tant que l'instrument n'est pas utilisé.

Le lavage de mise en veille dure environ deux heures. Le lavage consiste en deux lavages consécutifs visant à débarrasser chaque position de toute trace de réactif ou d'accumulation de sel. Chaque lavage dure approximativement 60 minutes.

Une fois le lavage de mise en veille terminé, l'instrument passe en mode veille et un message précisant l'état de l'instrument s'affiche à l'écran d'accueil. Lorsque l'instrument est en mode veille, un lavage de maintenance doit être effectué avant le lancement d'une analyse de séquençage.

Consommables fournis par l'utilisateur

- ▶ Tween 20 (Sigma-Aldrich, n° de référence P7949)
- ▶ Eau de laboratoire

Procédure

- 1 Assurez-vous qu'une Flow Cell usagée est chargée dans l'instrument.
- 2 À l'écran d'accueil, sélectionnez **Perform Wash** (Procéder au lavage).
- 3 À l'écran Wash Options (Options de lavage), sélectionnez **Perform Standby Wash** (Réalisation d'un lavage de mise en veille).
Le logiciel lève automatiquement les dispositifs d'aspiration dans le réfrigérant pour réactifs.

Procédez au premier lavage

- 1 Préparez une nouvelle solution de lavage avec du Tween 20 et de l'eau de laboratoire :
 - a Ajoutez 5 ml de Tween 20 à 100 % dans 45 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir du Tween 20 à 10 %.
 - b Ajoutez 25 ml de Tween 20 à 10 % dans 475 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir une solution de lavage de Tween 20 à 0,5 %.
 - c Retournez cinq fois pour mélanger.
- 2 Préparez les composants de lavage avec la nouvelle solution de lavage :
 - a Ajoutez 6 ml de solution de lavage dans chaque réservoir du plateau de lavage.
 - b Ajoutez 350 ml de solution de lavage dans le flacon de lavage de 500 ml.
- 3 Chargez le plateau de lavage et le flacon de lavage dans l'instrument :
 - a Ouvrez la porte du compartiment des réactifs et la porte du réfrigérant pour réactifs, et faites glisser la cartouche de réactifs usagée ou le plateau de lavage hors du compartiment réfrigéré.
 - b Faites glisser le plateau de lavage dans le réfrigérant pour réactifs jusqu'à ce qu'il s'arrête. Fermez la porte du réfrigérant pour réactifs.
 - c Soulevez la poignée des dispositifs d'aspiration située en face du flacon de PR2 et du flacon à déchets jusqu'à ce qu'elle se verrouille, puis remplacez le flacon de PR2 par le flacon de lavage.



REMARQUE

Jetez le flacon de PR2 après chaque analyse. Ne réutilisez pas le PR2 restant.

- a Retirez le flacon à déchets et jetez son contenu de manière appropriée. Remettez le flacon à déchets dans le compartiment des réactifs.
 - b Abaissez doucement la poignée des dispositifs d'aspiration en veillant à ce que les dispositifs d'aspiration descendent dans le flacon de lavage et le flacon à déchets.
 - c Fermez la porte du compartiment des réactifs.
- 4 Sélectionnez **Next** (Suivant). Le premier lavage est lancé.

Procédez au second lavage

Utilisez une nouvelle solution de lavage à chaque étape du lavage. Le fait de réutiliser la solution de lavage du lavage précédent peut renvoyer des déchets dans les lignes fluidiques.

- 1 Préparez une nouvelle solution de lavage avec du Tween 20 et de l'eau de laboratoire comme suit :
 - a Ajoutez 5 ml de Tween 20 à 100 % dans 45 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir du Tween 20 à 10 %.
 - b Ajoutez 25 ml de Tween 20 à 10 % dans 475 ml d'eau de laboratoire. Ces volumes permettent d'obtenir une solution de lavage de Tween 20 à 0,5 %.
 - c Retournez cinq fois pour mélanger.
- 2 Une fois le premier lavage terminé, retirez le plateau de lavage et le flacon de lavage, puis jetez la solution de lavage restante.

- 3 Remplissez les composants de lavage avec la nouvelle solution de lavage, comme suit :
 - a Ajoutez 6 ml de solution de lavage dans chaque réservoir du plateau de lavage.
 - b Ajoutez 350 ml de solution de lavage dans le flacon de lavage de 500 ml.
- 4 Chargez le plateau de lavage et le flacon de lavage, comme suit :
 - a Faites glisser le plateau de lavage dans le réfrigérant pour réactifs jusqu'à ce qu'il s'arrête. Fermez la porte du réfrigérant pour réactifs.
 - b Chargez le flacon de lavage et abaissez doucement la poignée des dispositifs d'aspiration en veillant à ce que ces derniers descendent dans le flacon de lavage et le flacon à déchets.
 - c Fermez la porte du compartiment des réactifs.
- 5 Sélectionnez **Next** (Suivant). Le second lavage est lancé.

Après le lavage

Une fois le lavage terminé, laissez la Flow Cell usagée, le plateau de lavage et le flacon de lavage qui contient le reste de la solution de lavage sur l'instrument.



REMARQUE

Les dispositifs d'aspiration restent en position basse, ce qui est normal. Laissez la solution de lavage inutilisée sur le plateau de lavage et dans le flacon de lavage afin d'empêcher les dispositifs d'aspiration de se dessécher et l'air de pénétrer dans le système.

Gérer les fichiers

Sélectionnez **Manage Files** (Gérer les fichiers) à l'écran d'accueil pour déplacer, téléverser ou supprimer des fichiers, ou pour renommer les feuilles d'échantillons sur l'ordinateur de l'instrument.

Supprimer les fichiers

- 1 À partir de n'importe quel onglet se trouvant à l'écran **Manage Files** (Gérer les fichiers), sélectionnez **Browse** (Parcourir) pour accéder aux fichiers accessibles de l'instrument.
- 2 Choisissez parmi les options suivantes :
 - ▶ Cochez la case située en regard des fichiers ou dossiers individuels dans la liste.
 - ▶ Cochez la case située à gauche du bouton **Delete** (Supprimer) pour sélectionner tous les fichiers et dossiers de la liste. Cette option s'applique aux analyses, aux feuilles d'échantillons, aux manifestes, aux génomes et aux formules.
- 3 Sélectionnez **Delete** (Supprimer).



REMARQUE

La commande **Delete** (Supprimer) est disponible sur tous les onglets, sauf **Bundle Logs** (Regrouper des journaux).

Déplacer les dossiers d'analyse

La commande Move (Déplacer) permet de *copier* le dossier d'analyse dans le nouvel emplacement et de *supprimer* le dossier dans l'ancien emplacement.

- 1 Dans l'onglet Runs (Analyses) de l'écran Manage Files (Gérer les fichiers), sélectionnez **Browse** (Parcourir) pour accéder aux fichiers accessibles de l'instrument.
- 2 Cochez la case située en regard des fichiers ou dossiers individuels dans la liste.
- 3 Sélectionnez **Move** (Déplacer).
- 4 Sélectionnez **Browse Network** (Parcourir le réseau) puis sélectionnez un nouvel emplacement pour les fichiers ou les dossiers.
- 5 Sélectionnez **OK**.

Téléverser les fichiers

La commande Upload (Téléverser) est disponible pour les feuilles d'échantillons et les génomes.

Si l'instrument MiSeq n'est pas connecté à un réseau, utilisez cette fonctionnalité pour téléverser des fichiers sur l'ordinateur de l'instrument à partir d'une clé USB.

- 1 À l'onglet Sample Sheets (Feuilles d'échantillons) et Genomes (Génomes), sélectionnez **Browse** (Parcourir) pour accéder aux fichiers accessibles de l'instrument.
- 2 Sélectionnez **Upload** (Téléverser).
- 3 Sélectionnez **Browse Network** (Parcourir le réseau) et naviguez jusqu'à l'emplacement du fichier.
- 4 Sélectionnez **OK**.
Le fichier est téléversé dans le dossier indiqué dans le champ Directory (Répertoire).

Renommer les feuilles d'échantillons

- 1 À l'onglet Sample Sheets (Feuilles d'échantillon) de l'écran Manage Files (Gérer les fichiers), faites un choix parmi les options suivantes :
 - ▶ Cochez la case située en regard des feuilles d'échantillons individuelles.
 - ▶ Cochez la case située à gauche du bouton Delete (Supprimer) pour sélectionner toutes les feuilles d'échantillons de la liste.
- 2 Sélectionnez **Rename** (Renommer).
- 3 Cliquez sur l'icône du clavier et utilisez le clavier à l'écran pour renommer les feuilles d'échantillons.
- 4 Sélectionnez **Next** (Suivant).
- 5 Sélectionnez **Back** (Retour).

Mises à jour logicielles

Si votre système est connecté à un réseau doté d'un accès à Internet, vous pouvez automatiquement mettre à jour le logiciel de l'instrument à partir de l'écran d'accueil. Vous pouvez également configurer le logiciel afin qu'il recherche automatiquement les mises à jour de BaseSpace. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Configurer les notifications des mises à jour de BaseSpace*, page 12.

Si votre instrument n'est pas connecté à un réseau doté d'un accès à Internet, vous pouvez mettre à jour manuellement les logiciels.

Mettre à jour le logiciel automatiquement

Lorsque des mises à jour logicielles sont disponibles, le bouton **Update Available** (Mise à jour disponible) s'affiche sur l'écran d'accueil. Dans le cas contraire, ce bouton ne s'affiche pas. Assurez-vous que l'instrument MiSeq est connecté à un réseau doté d'un accès à Internet pour activer cette option.

- 1 À l'écran d'accueil, sélectionnez **Update Available** (Mise à jour disponible).
- 2 Confirmez la commande de mise à jour dans la boîte de dialogue.
Un redémarrage de l'instrument est requis. L'installation de la mise à jour commence automatiquement au redémarrage.

Mettre à jour le logiciel manuellement

Utilisez la fonctionnalité Manual Update (Mise à jour manuelle) pour mettre à jour le logiciel de commande et le logiciel d'analyse de l'instrument à partir de l'interface MiSeq en naviguant jusqu'à l'emplacement du fichier du logiciel à installer.

- 1 Dans le menu principal, cliquez sur **Software Update** (Mise à jour logicielle).
- 2 Sélectionnez **Browse** (Parcourir) pour naviguer jusqu'à l'emplacement du fichier de la nouvelle version du logiciel à installer.
- 3 Lorsque le chemin du fichier à installer du logiciel apparaît à l'écran, sélectionnez **Save and Update** (Enregistrer et mettre à jour).
- 4 Confirmez la commande de mise à jour dans la boîte de dialogue.
Un redémarrage de l'instrument est requis. L'installation de la mise à jour commence automatiquement au redémarrage.

Arrêt de l'instrument

Il est recommandé de laisser l'instrument allumé en permanence. Toutefois, si vous devez éteindre l'instrument, conformez-vous à la procédure suivante pour arrêter Windows et préparer les lignes fluidiques.

- 1 Faites un lavage de maintenance. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Réaliser un lavage de maintenance*, page 34.
- 2 Retirez le flacon à déchets et jetez son contenu de manière appropriée. Remettez le flacon à déchets dans le compartiment des réactifs.
- 3 Fermez la porte du compartiment des réactifs.
- 4 À l'écran d'accueil, sélectionnez **Manage Instrument** (Gérer l'instrument).
- 5 Sélectionnez **Shut Down** (Arrêter).
Cette commande permet d'arrêter le logiciel.
- 6 Mettez le bouton d'alimentation en position OFF (Arrêt).



REMARQUE

À chaque arrêt de l'instrument, attendez un *minimum* de 60 secondes avant de le rallumer.

Annexe A Dépannage

Introduction	41
Regrouper des journaux pour le dépannage	41
Réaliser une vérification du système	42
Interrompre ou arrêter une analyse	43
Relever manuellement les dispositifs d'aspiration de la cartouche de réactifs	44
Résolution des erreurs de configuration de l'analyse	44
Résolution des échecs de lecture RFID	44
Réalisation d'un test de volume	45
Mesurer les volumes de lavage attendus	46
Résolution des erreurs liées à la température du réfrigérant pour réactifs	46
Résolution des erreurs d'analyse de Local Run Manager	47
Configuration des paramètres du système	47

Introduction

Cette section décrit les étapes de dépannage à suivre avant de communiquer avec l'assistance technique d'Illumina. Pour la plupart des erreurs, un message apparaît à l'écran avec les instructions à suivre pour les corriger.

En cas de questions techniques, consultez les pages d'assistance du système MiSeq sur le site Web d'Illumina pour accéder à la foire aux questions ou connectez-vous à votre compte MyIllumina pour accéder aux bulletins d'assistance.

En cas de problème avec la qualité ou la performance de l'analyse, communiquez avec l'assistance technique d'Illumina. Pour plus de renseignements, consultez la section *Assistance technique*, page 55.

Les représentants de l'assistance technique d'Illumina vous demanderont généralement de fournir des copies des fichiers spécifiques à l'analyse à des fins de dépannage. Vous pouvez utiliser l'onglet Bundle Logs (Regrouper des journaux) à l'écran Manage Files (Gérer les fichiers) pour rassembler et compresser les fichiers nécessaires au dépannage. Consultez la section *Regrouper des journaux pour le dépannage*, page 41.

Regrouper des journaux pour le dépannage

La fonctionnalité Bundle Logs (Regrouper des journaux) regroupe des fichiers afin de les envoyer à l'assistance technique d'Illumina pour dépannage. Utilisez l'onglet Bundle Logs (Regrouper des journaux) à l'écran Manage Files (Gérer les fichiers) pour sélectionner un groupe de fichiers, appelé *lot*. Le lot est automatiquement compressé.

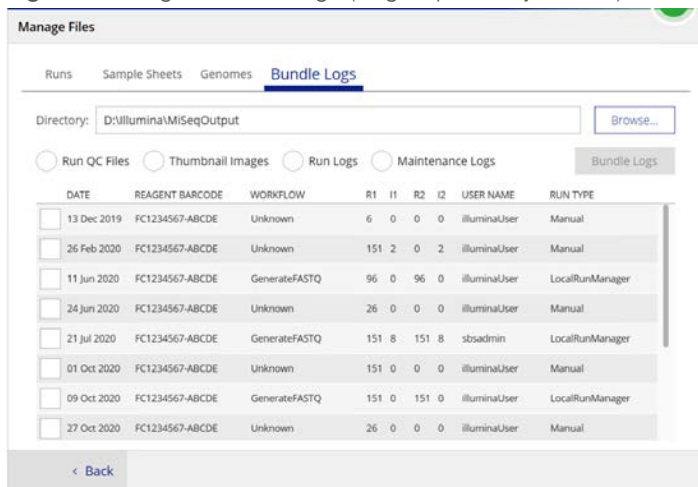
La fonctionnalité Bundle Logs (Regrouper des journaux) regroupe les fichiers d'une même analyse en un type de lot à la fois. Recommencez la procédure Bundle Logs (Regrouper des journaux) pour chaque analyse et chaque type de lot demandé par l'assistance technique d'Illumina.

- 1 À l'écran Manage Files (Gérer les fichiers), sélectionnez l'onglet **Bundle Logs** (Regrouper des journaux).
- 2 Sélectionnez **Browse** (Parcourir) pour naviguer jusqu'à l'emplacement du répertoire MiSeqOutput.
- 3 Sélectionnez le type de fichier à regrouper : fichiers du CQ de l'analyse, vignettes, journaux de l'analyse ou journaux de maintenance.
- 4 Cochez la case située à côté de l'analyse.
- 5 Sélectionnez **Bundle Logs** (Regrouper des journaux).
L'écran Bundle Files (Regrouper des fichiers) s'ouvre. Cet écran donne des renseignements sur le lot, notamment la liste de tous les fichiers contenus dans le lot.

Pour obtenir plus de renseignements sur chaque dossier et fichier de la fonctionnalité Bundle Logs (Regrouper des journaux), consultez la *Carte de référence rapide pour les dossiers de sortie et d'analyse du système MiSeq (document n° 15034791)*.

- 6 Sélectionnez **Next** (Suivant).
- 7 Naviguez jusqu'à l'emplacement où vous souhaitez enregistrer les fichiers en lots compressés.
- 8 Sélectionnez **Save** (Enregistrer).
Lorsque le regroupement des fichiers est terminé, l'onglet Bundle Logs (Regrouper des journaux) s'ouvre à nouveau.
- 9 Envoyez le lot compressé à l'assistance technique d'Illumina.

Figure 20 Onglet Bundle Logs (Regrouper des journaux)



Réaliser une vérification du système

L'option System Check (Vérification du système) est généralement utilisée pour communiquer avec un représentant de l'assistance technique d'Illumina lors d'une séance Live Help (Aide en direct). L'utilisation de cette fonctionnalité n'est pas obligatoire durant le fonctionnement normal ou la maintenance de l'instrument.

Certaines vérifications du système peuvent être effectuées avant de communiquer avec l'assistance technique d'Illumina, telles que le test de volume. Ce test permet de vérifier l'état du système fluide en estimant le volume du flux lorsque des bulles passent au niveau des capteurs. Pour plus de renseignements, consultez la section *Réalisation d'un test de volume, page 45*.



ATTENTION

Les tests d'inclinaison et tests optiques complets requièrent un type spécifique de Flow Cell et ne doivent être réalisés que par un technicien Illumina.

- 1 Dans le menu principal, sélectionnez **System Check** (Vérification du système).
- 2 Effectuez l'une des opérations suivantes :
 - ▶ Sélectionnez les tests à réaliser individuellement.
 - ▶ Sélectionnez **Select All** (Tout sélectionner) pour réaliser tous les tests.
- 3 Sélectionnez **Next** (Suivant).
Lorsque le test est terminé, les résultats s'affichent à l'écran.

- 4 **[Facultatif]** Sélectionnez **Show Details** (Afficher les détails) pour consulter un résumé des résultats dans l'interface du logiciel.
- 5 **[Facultatif]** Sélectionnez **Export Results** (Exporter les résultats) pour exporter les résultats au format *.csv sur une clé USB.
- 6 Cliquez sur **Done** (Terminer).

Interrompre ou arrêter une analyse

L'instrument MiSeq est conçu pour effectuer les analyses du début à la fin sans l'intervention de l'utilisateur. Toutefois, il est possible d'interrompre ou d'arrêter une analyse à partir de l'écran Sequencing (Séquençage).

Interrompre une analyse

Vous pouvez interrompre temporairement une analyse avant sa fin. Par exemple, il est possible d'interrompre une analyse si vous pensez que le flacon à déchets est plein. Il est possible de reprendre une analyse qui a été interrompue.

Lorsque vous sélectionnez **Pause** (Interrompre), l'analyse est interrompue une fois la commande en cours achevée, puis la Flow Cell est placée en état de sécurité.

Pour interrompre une analyse à partir de l'écran Sequencing (Séquençage), sélectionnez **Pause** (Interrompre). Le bouton devient le bouton Resume (Reprendre). Lorsque vous êtes prêt(e) à reprendre l'analyse, sélectionnez **Resume** (Reprendre).

Figure 21 Écran Sequence (Séquencer) d'une analyse interrompue

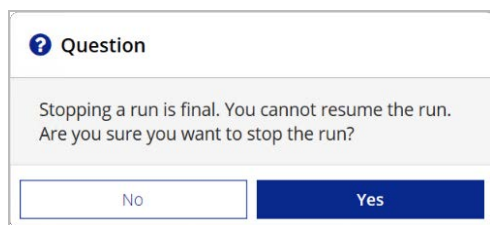


Arrêter une analyse

Pendant le séquençage, vous pouvez arrêter une analyse avant sa fin en utilisant le bouton **Stop** (Arrêt) à l'écran Sequencing (Séquençage). Vous pouvez arrêter une analyse si sa configuration est incorrecte, si la qualité de ses données n'est pas satisfaisante ou en cas d'erreur matérielle.

Lorsqu'une analyse est arrêtée, la commande en cours reste inachevée et la platine de la Flow Cell se met en position avancée. Le logiciel d'analyse en temps réel poursuit l'analyse pour le dernier cycle terminé.

Figure 22 Arrêt d'une analyse



L'arrêt d'une analyse est définitif. Une analyse interrompue ne peut pas être reprise au point d'interruption. L'unique option est de procéder au lavage de l'instrument.

Relever manuellement les dispositifs d'aspiration de la cartouche de réactifs

Il est possible que les dispositifs d'aspiration de la cartouche de réactifs ne se relèvent pas automatiquement si une analyse est interrompue de manière inattendue ou si une erreur se produit au cours de l'analyse. Pour retirer la cartouche de réactifs, relevez manuellement les dispositifs d'aspiration de la cartouche de réactifs.

- 1 À l'écran d'accueil, sélectionnez **Perform Wash** (Procéder au lavage).
- 2 Sélectionnez **Raise Sippers** (Soulever les dispositifs d'aspiration).
- 3 Retirez la cartouche de réactifs.

Résolution des erreurs de configuration de l'analyse

Si l'un des contrôles de la vérification avant analyse échoue, une icône rouge **X** apparaît à côté de l'élément. Un message s'affiche à l'écran pour décrire l'erreur et la manière de la corriger.

Erreur	Action
X Free Disk Space (Espace disque disponible)	Si l'espace disque est insuffisant, un message apparaît indiquant l'espace disque nécessaire. Utilisez la fonction Manage Files (Gérer les fichiers) pour libérer l'espace requis sur l'ordinateur de l'instrument.
X Network Connection Active (Connexion réseau active)	Vérifiez que le câble réseau est relié à l'instrument. Si la connexion réseau n'est pas rétablie, sélectionnez Reboot (Redémarrer) à l'écran Manage Instrument (Gérer l'instrument) pour redémarrer le logiciel. Si la connexion réseau n'est toujours pas rétablie, sélectionnez Shut Down (Arrêter) à l'écran Manage Instrument (Gérer l'instrument), puis éteignez l'instrument à l'aide du bouton d'alimentation. Attendez au moins 60 secondes, puis mettez l'instrument sous tension et démarrez le logiciel.
X Primary Analysis Ready (Analyse primaire prête)	L'analyse primaire de l'analyse précédente n'est pas terminée. Par défaut, l'analyse primaire dure une heure, et un compte à rebours s'affiche à l'écran. Vous pouvez attendre une heure ou sélectionner Terminate Analysis (Terminer l'analyse). L'analyse secondaire s'arrête pour tous les cycles incomplets.

Résolution des échecs de lecture RFID

Si le système ne peut pas effectuer la lecture RFID d'un consommable, vous pouvez obtenir un code de contournement temporaire sur le site Web d'Illumina. Le code de contournement temporaire expire au bout de sept jours.

- 1 Réessayez toujours la lecture RFID avant de continuer. Si la lecture RFID échoue une seconde fois, sélectionnez **Enter Code** (Saisir un code).
- 2 Au moyen d'un ordinateur connecté à Internet, accédez au site my.illumina.com, puis sélectionnez **Sign In** (Ouverture de session) dans la barre d'outils qui se trouve dans le haut de la page.
- 3 Connectez-vous à votre compte Myllumina.
Votre nom remplacera le bouton Sign In (Ouverture de session) dans la barre d'outils.
- 4 Placez le curseur au-dessus de votre nom, puis sélectionnez **Account** (Compte). Dans la colonne **My Tools** (Mes outils), cliquez sur **MiSeq Self-Service** (Libre-service MiSeq).
- 5 Sur la page MiSeq Self-Service (Libre-service MiSeq), saisissez le **MiSeq serial number** (Numéro de série MiSeq).
- 6 Dans la liste déroulante Type of Override Code (Type de code de remplacement), sélectionnez **RFID Override** (Remplacement du code RFID).
- 7 Pour générer le code, sélectionnez **Get Code** (Obtenir un code).
- 8 Revenez à l'interface MCS, puis sélectionnez **Enter Code** (Saisir un code).
- 9 Saisissez le code de contournement temporaire à l'aide du clavier sur l'écran, puis sélectionnez **Next** (Suivant).
- 10 Saisissez le numéro du code à barres de la Flow Cell, du flacon de PR2 ou de la cartouche de réactifs.

Consommable	Emplacement du numéro du code à barres
Flow Cell	Au-dessus du code à barres sur l'étiquette du conteneur de la Flow Cell. Les numéros du code à barres de la Flow Cell commencent par A (standard), G (micro) ou D (nano). Exemple : A0E61
Flacon de PR2	En dessous du code à barres sur l'étiquette du flacon de PR2. Exemple : MS0011881-PR2
Cartouche de réactifs	En dessous du code à barres sur l'étiquette de la cartouche de réactifs. Exemple : MS0010744-300

- 11 Si vous saisissez un code de contournement pour la cartouche de réactifs, saisissez le numéro de version de la trousse. Sélectionnez **Enter Reagent Kit Barcode** (Saisir le code à barres de la trousse de réactifs) pour saisir manuellement le numéro du code à barres de la cartouche de réactifs et le numéro de version de la trousse.



ATTENTION

La saisie d'une version de trousse de réactifs incorrecte peut avoir des répercussions négatives sur les données de séquençage.

- 12 Sélectionnez **Enter** (Entrée).

Réalisation d'un test de volume

Une obstruction des lignes fluidiques peut expliquer une mauvaise distribution des réactifs ou de mauvais résultats de séquençage. Si vous pensez que les lignes fluidiques peuvent être obstruées, réalisez un test de volume.

Ce test permet de vérifier l'état du système fluïdique en estimant le volume entre les bulles lorsqu'elles passent au niveau des capteurs. Pour réaliser un test de volume, le plateau et le flacon de lavage doivent être chargés d'eau de laboratoire et une Flow Cell usagée doit être en place. Suivez les instructions affichées à l'écran pour réaliser le test.

- 1 Assurez-vous qu'une Flow Cell usagée est chargée dans l'instrument.
- 2 Dans le menu principal, sélectionnez **System Check** (Vérification du système).
- 3 Sélectionnez **Conduct Volume Test** (Effectuer un test de volume), puis **Next** (Suivant).
- 4 Remplissez chaque réservoir du plateau de lavage avec 6 ml d'eau de laboratoire.
- 5 Remplissez le flacon de lavage de 500 ml avec 350 ml d'eau de laboratoire.
- 6 Chargez le plateau de lavage et le flacon de lavage sur l'instrument.
 - a Ouvrez la porte du compartiment des réactifs et la porte du réfrigérant pour réactifs, puis faites glisser le plateau de lavage dans le réfrigérant pour réactifs jusqu'à ce qu'il s'arrête. Fermez la porte du réfrigérant pour réactifs.
 - b Retirez le flacon à déchets et jetez son contenu de manière appropriée. Remettez le flacon à déchets dans le compartiment des réactifs.
 - c Abaissez doucement la poignée des dispositifs d'aspiration en veillant à ce que les dispositifs d'aspiration descendent dans le flacon de lavage et le flacon à déchets.
- 7 Sélectionnez **Next** (Suivant).
 À la fin du test, les résultats apparaissent à l'écran.
 Si le test n'est pas concluant, réalisez un lavage de maintenance. Consultez la section *Réaliser un lavage de maintenance*, page 34.
- 8 À la fin du lavage de maintenance, réalisez à nouveau le test de volume.

Mesurer les volumes de lavage attendus

La mesure des volumes de lavage attendus permet de confirmer l'efficacité de la fluïdique du lavage.

- 1 Avant de commencer un lavage, videz le flacon à déchets.
- 2 À la fin du lavage, mesurez le volume de lavage dans le flacon à déchets.

Type de lavage	Volume de lavage attendu
Lavage après analyse	17,25 ml
Lavage après analyse incluant le lavage de la ligne de modèle	25,5 ml
Lavage de mise en veille	46 ml
Lavage de maintenance	51,75 ml

Résolution des erreurs liées à la température du réfrigérant pour réactifs

La plage de température requise du réfrigérant pour réactifs est de 2 °C à 11 °C. Un indicateur de capteur affiche la température du réfrigérant pour réactifs. Consultez la section *Indicateurs de capteurs*, page 6.

Si vous voyez un message d'erreur indiquant que la température du réfrigérant ne se trouve pas dans la plage requise, communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.

Pour plus de renseignements sur le réfrigérant pour réactifs, consultez la section *Compartiment des réactifs*, page 3.

Résolution des erreurs d'analyse de Local Run Manager

Pour obtenir des renseignements de dépannage associés à des erreurs d'analyse, consultez le *Guide du logiciel Local Run Manager v3 (document n° 1000000111492)*. Vous y trouverez notamment la procédure à suivre pour remettre une analyse en file d'attente.

Configuration des paramètres du système

Le logiciel MCS comprend plusieurs écrans d'accès aux commandes de configuration du système. Les paramètres du logiciel sont généralement configurés lors de l'installation de l'instrument MiSeq.

Configuration des paramètres IP et DNS

Configurez l'adresse IP et les adresses de serveur DNS si cela est nécessaire en raison d'un changement de réseau ou d'installation.

- 1 Dans le menu principal, cliquez sur **System Settings** (Paramètres du système).
 - ▶ Sélectionnez **Obtain an IP address automatically** (Obtenir automatiquement une adresse IP) ou **Use the following IP address** (Utiliser l'adresse IP suivante).
Si vous sélectionnez **Use the following IP address** (Utiliser l'adresse IP suivante), saisissez une adresse IP, un masque de sous-réseau et une passerelle par défaut.
 - ▶ Sélectionnez **Obtain DNS address automatically** (Obtenir automatiquement une adresse DNS) ou **Use the following DNS server addresses** (Utiliser les adresses de serveur DNS suivantes).
Si vous sélectionnez **Use the following DNS server addresses** (Utiliser les adresses de serveur DNS suivantes), saisissez une adresse de serveur DNS à privilégier et une adresse secondaire.
- 2 Sélectionnez **Save and Continue** (Enregistrer et continuer).

Annexe B Fichiers et dossiers de sortie

Dossiers d'analyse	48
Contenu du dossier MiSeqOutput	48
Dossiers et fichiers RTA	50

Dossiers d'analyse

Chaque analyse sur le système MiSeq génère trois dossiers d'analyse, chacun d'eux ayant un objectif précis :

- ▶ **D:\Illumina\MiSeqTemp** : lorsque l'analyse commence, un dossier d'analyse temporaire est écrit sur le disque local de l'ordinateur de l'instrument et utilisé en tant que zone de travail de MCS et de RTA. Il n'est pas nécessaire d'accéder au dossier MiSeqTemp. Le contenu de ce dossier est supprimé au bout de sept jours.
- ▶ **D:\Illumina\MiSeqOutput** : RTA copie les fichiers du dossier MiSeqTemp dans le dossier MiSeqOutput. À mesure que les fichiers de l'analyse primaire sont générés, RTA copie à nouveau les fichiers dans le dossier MiSeqTemp et remplit le dossier MiSeqAnalysis. Les images de mise au point et les vignettes ne sont pas copiées dans le dossier MiSeqAnalysis. Consultez la section *Dossiers et fichiers RTA*, page 50.
- ▶ Vous pouvez modifier l'emplacement du dossier de sortie dans le champ Output Folder (Dossier Sortie) de l'écran Run Options (Options d'analyse). Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Configurer les emplacements de dossiers par défaut*, page 13.
- ▶ **D:\Illumina\MiSeqAnalysis** : une fois l'analyse RTA terminée, Local Run Manager accède au dossier MiSeqAnalysis sur le disque local de l'instrument pour commencer l'analyse secondaire. Tous les fichiers écrits dans le dossier MiSeqAnalysis (Analyse) sont de nouveau copiés dans le dossier MiSeqOutput. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Contenu du dossier MiSeqOutput*, page 48.

Si vous utilisez BaseSpace pour l'analyse sans répliquer cette dernière localement, le dossier MiSeqAnalysis sur le disque local de l'instrument est vide.

Dénomination du dossier racine

Le nom du dossier d'analyse racine indique la date de l'analyse, le numéro de l'instrument et la Flow Cell utilisée pour l'analyse.

Le nom attribué au dossier prend, par défaut, le format suivant :

AAMMJJ_<NuméroInstrument>_<NuméroAnalyse>_<CodeBarresFlowCell>

Le numéro d'analyse est incrémenté d'une unité à chaque analyse exécutée sur un instrument donné.

Contenu du dossier MiSeqOutput

Une fois l'analyse RTA terminée, le dossier MiSeqOutput contient les fichiers requis pour l'analyse secondaire. Une fois l'analyse secondaire terminée, les dossiers MiSeqOutput et MiSeqAnalysis sont identiques, mais le dossier MiSeqOutput contient deux sous-dossiers pour les fichiers d'images : Images et Thumbnail_Images. Ces sous-dossiers ne sont pas requis pour l'analyse secondaire.

Fichiers

Les fichiers copiés dans les dossiers de sortie et d'analyse comprennent les éléments suivants :

- ▶ **SampleSheet.csv** : fournit des paramètres pour l'exécution et l'analyse ultérieure. Au début de l'analyse, la feuille d'échantillons est copiée dans le dossier racine et renommée SampleSheet.csv. Les copies sont versées dans les répertoires Data\Intensities et Data\Intensities\BaseCalls.

- ▶ **runParameters.xml** : contient un résumé des paramètres d'analyse et des renseignements sur les composants de l'analyse, notamment la RFID de la Flow Cell et les réactifs associés à l'analyse.
- ▶ **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.

Dossiers

Les dossiers copiés dans les dossiers de sortie et d'analyse comprennent les dossiers suivants, générés au cours de l'analyse de séquençage :

- ▶ **<Nom du dossier d'analyse>\Config (Configuration)** : contient les fichiers de configuration pour l'analyse.
- ▶ **<Nom du dossier d'analyse>\Data (Données)** : contient les sous-dossiers Intensities (Intensités), BaseCalls (Définitions des bases) et Alignment (Alignement). Les données générées à partir de Local Run Manager se trouvent dans le sous-dossier Alignment (Alignement).
- ▶ **<Nom du dossier d'analyse>\Data\RTA Logs (Données\Journaux RTA)** : contient les fichiers journaux qui décrivent chaque étape effectuée par RTA pour chaque lecture.
- ▶ **<Nom du dossier d'analyse>\Data\Intensities\BaseCalls (Données\Intensités\Définitions des bases)** : contient les sous-dossiers contenant les fichiers de définition des bases (*.bcl), les fichiers de matrice et les fichiers de mise en phase. Local Run Manager verse les fichiers FASTQ dans ce dossier au cours de l'analyse secondaire. Pour obtenir plus de renseignements, consultez le *Guide du logiciel Local Run Manager (document n° 1000000111492)*.
- ▶ **<Nom du dossier d'analyse>\Recipe (Formule)** : contient la formule utilisée pour l'analyse.
- ▶ **<Nom du dossier d'analyse>\Logs (Journaux)** : contient les fichiers journaux qui décrivent chaque étape effectuée par l'instrument pour chaque cycle.
- ▶ **<Nom du dossier d'analyse>\InterOp** : contient les fichiers binaires utilisés par le visualiseur d'analyse de séquençage (SAV) pour récapituler les différentes mesures de l'analyse primaire telles que la densité et les intensités des amplifiats, les scores de qualité et la qualité globale de l'analyse.

Tous les autres fichiers et dossiers créés dans le dossier d'analyse temporaire ne sont pas copiés dans les dossiers de sortie et d'analyse. Ils contiennent des fichiers temporaires non requis pour l'analyse ou le dépannage.

Local Run Manager ajoute les autres dossiers, tels que le dossier de l'alignement, au cours de l'analyse secondaire. Pour obtenir plus de renseignements, consultez le *Guide du logiciel Local Run Manager v3 (document n° 1000000111492)*.

Dossiers et fichiers RTA

Le tableau suivant décrit les dossiers et fichiers créés par le logiciel d'analyse en temps réel (RTA) au cours de l'analyse primaire. Plusieurs de ces fichiers servent à l'analyse secondaire effectuée par le logiciel Local Run Manager.

Fichier clé	Sous-fichier	Description
RTAComplete.txt	Dossier racine	Fichier de marqueurs créé à la fin de l'analyse des définitions de bases. La présence de ce fichier déclenche le lancement de l'analyse secondaire.
SampleSheet.csv	Dossier racine	Ce fichier est lu et copié dans le dossier d'analyse avant l'analyse, et il est utilisé ultérieurement pour l'analyse secondaire.
RunInfo.xml	Dossier racine	Identifie les limites des lectures (incluant les lectures d'index) et la table de qualité sélectionnée pour l'analyse.
fichiers *.bcl	Data\ Intensities\BaseCalls\ L001\CX.X	Chaque fichier *.bcl contient les résultats des définitions de bases générées à l'aide du logiciel d'analyse en temps réel (RTA) et les scores de qualité des définitions de bases pour chaque cycle et chaque plaque.
fichiers *.stats	Data\ Intensities\BaseCalls\ L001\CX.X	Les fichiers *.stats contiennent les statistiques des définitions de bases générées à l'aide de l'analyse en temps réel (RTA) pour toute plaque ou tout cycle donné.
fichiers *.filter	Data\ Intensities\BaseCalls	Les fichiers *.filter contiennent les résultats des filtres pour chaque plaque.
*.txt	Data\RTALogs	Fichiers journaux de l'analyse primaire.
fichiers *.cif	Data\ Intensities\L001\CX.X	Chaque fichier binaire *.cif contient les résultats de l'analyse d'images avec le logiciel d'analyse en temps réel (RTA) par cycle et par plaque. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section <i>Numérotation des plaques de la Flow Cell</i> , page 51.
fichiers *.locs	Data\ Intensities\BaseCalls\ L001	Rapporte les coordonnées des amplifiats. Chaque fichier *.locs représente une plaque.
fichiers *.jpg	Thumbnail_Images\ L001\CX.X	Les vignettes sont créées par cycle et par base, et peuvent être utilisées pour le dépannage en cas de problème avec l'analyse. Ces fichiers sont utilisés pour l'analyse d'images et ne sont pas copiés dans le dossier Analysis (Analyse). Pour en savoir plus sur le nom des fichiers d'images, consultez la section <i>Numérotation des plaques de la Flow Cell</i> , page 51

Plaques de la Flow Cell

Au cours de l'analyse de séquençage, de petites zones d'imagerie, appelées plaques, sont créées à partir de la ligne unique de la Flow Cell. Toutes les Flow Cell MiSeq sont dotées d'une ligne unique, mais le nombre de plaques varie selon le type de Flow Cell que vous utilisez.

Flow Cell	Trousse de réactifs MiSeq	Plaques	Surface d'imagerie	Total de plaques mises en image
Flow Cell standard	Trousses de réactifs MiSeq, v3	19 plaques	Supérieure et inférieure	Total de 38 plaques
Flow Cell PGS	Trousse de réactifs MiSeq v3-PGS	19 plaques	Supérieure et inférieure	Total de 38 plaques

Flow Cell	Trousse de réactifs MiSeq	Plaques	Surface d'imagerie	Total de plaques mises en image
Flow Cell standard	Trousses de réactifs MiSeq, v2	14 plaques	Supérieure et inférieure	Total de 28 plaques
Micro Flow Cell	Trousses de réactifs MiSeq Micro, v2	4 plaques	Supérieure et inférieure	Total de 8 plaques
Nano Flow Cell	Trousses de réactifs MiSeq Nano, v2	2 plaques	Surface supérieure uniquement	Total de 2 plaques

Lors de la mise en image des plaques pendant l'analyse de séquençage, un fichier de sortie est généré pour chaque plaque. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Numérotation des plaques de la Flow Cell*, page 51.

Numérotation des plaques de la Flow Cell

Lors de la mise en image des plaques pendant l'analyse de séquençage, un fichier de sortie est généré pour chaque plaque et nommé selon le numéro de plaque à quatre chiffres. Les surfaces supérieures et inférieures des Flow Cell sont mises en image, sauf dans le cas de la nano Flow Cell. Les fichiers de sortie correspondant à chaque plaque sont situés dans le dossier d'analyse `Data\Intensities\BaseCalls\L001`.

Flow Cell	Trousse de réactifs MiSeq	Plaques	Surface d'imagerie	Noms des fichiers image
Flow Cell standard Flow Cell PGS	Trousse de réactifs MiSeq, v3	1-19	Supérieure	1101 à 1119
		1-19	Inférieure	2101 à 2119
Flow Cell standard	Trousse de réactifs MiSeq, v2	114	Supérieure	1101 à 1114
		114	Inférieure	2101 à 2114
Micro Flow Cell	Trousse de réactifs MiSeq Micro, v2	1-4	Supérieure	1101 à 1104
		1-4	Inférieure	2101 à 2104
Nano Flow Cell	Trousse de réactifs MiSeq Nano, v2	12	Surface supérieure uniquement	1101 à 1102

Index

A

adresse IP 47
aide, technique 55
alertes par courriel 12
Analyse en temps réel
 génération du modèle 27
 résultats 50
analyse secondaire 7
arrêt d'une analyse 43
arrêt de l'instrument 40
assistance clientèle 55
assistance technique 55
avertissements 6

B

BaseSpace
 connexion 6-7
 mises à jour 12

C

cartouche de réactifs 9
 contenu 10
 décongélation 16
 inspection 17
chargement des réactifs
 cartouche 24
 PR2 23
compartiment de la Flow Cell 2-3
compartiment des réactifs 2-3
CompletedJobInfo.xml 7
composants
 cartouche de réactifs 9
 compartiment de la Flow Cell 2-3
 compartiment des réactifs 2-3
 Flow Cell 8, 50
 module optique 2
consommables 13
 eau de laboratoire 14
copie de fichiers et de dossiers 38
cycles d'une lecture 16

D

dépannage
 fichiers spécifiques à l'analyse 41
 fluidique 45

 regrouper des journaux 38-39, 41
 RFID 44
déplacement de fichiers et de dossiers 38
directives à propos de l'eau de laboratoire 14
documentation 1, 55
dossier d'analyse
 définition 4
Dossier InterOp 49
dossiers d'analyse
 contenu 48
 dénomination 48
 fichiers d'analyse primaire 50
 gestion 38
 temporaire, sortie, analyse 48
durée de l'analyse 15

E

écran Sequencing (Séquençage) 26
écrans de configuration de l'analyse 18
emplacement des dossiers
 paramètres par défaut 13
 pour l'analyse en cours 25
erreurs 6
espace disque
 vérification 8

F

feuille d'échantillons
 copie vers l'instrument 38
 dans le dossier d'analyse 50
 définition 4
fichier de manifeste
 copie vers l'instrument 38
 définition 4
fichiers InterOp 5
flacon à déchets 3
Flow Cell
 couleur du couvercle 9
 indicatif à lettre 44
 ligne unique 8
 nettoyage 20
 numérotation des plaques 51
 plaques 50
 présentation 8
fluidique
 dépannage 45
 lavage 34, 36

- flux de travail
 - durée de l'analyse 15
- flux de travail de l'analyse
 - définition 4
- flux de travail VeriSeq PGS
 - Flow Cell 9
 - fréquence de maintenance 33
- formation 1
- formules, gestion 38

G

- génération du modèle 8, 27
- génom de référence
 - format de fichier 4

I

- icônes
 - capteurs 6
- icônes clignotantes 6
- indicateurs de capteurs 6
- interrompre une analyse 43

L

- lavage après analyse 28
- lavage de la ligne de modèle 28
- lavage de maintenance 34
- lavage de mise en veille 36
- lavages
 - après analyse 28
 - avantages 28
 - maintenance 34
 - mise en veille 36
 - paramètres de lavage après analyse 11
 - préparer la mise en veille 36
 - préparez l'arrêt 40
 - volumes attendus 46
- libre-service MiSeq 44
- Local Run Manager 1
 - aperçu 7
- logiciel
 - durée de l'analyse 15
 - mise à jour 39-40
 - vérification de l'espace disque 8
- logiciel de commande 5
- longueur de lecture 15-16

M

- mise à jour logicielle 12, 39-40
- mise en veille de l'instrument 36
- module optique 2

N

- nom de domaine 47
- numérotation des plaques 51

O

- options d'analyse 11-13

P

- pages d'assistance 1
- paramètres du réseau 47
- paramètres du système 47
- pince de la Flow Cell 3
- poignée des dispositifs d'aspiration 3
- PR2, chargement 23

R

- réactifs
 - en trousse 8
- Real-Time Analysis 1, 5
 - dossier d'analyse 48
- références du génome 38
- réfrigérant pour réactifs, température 6
- regrouper des journaux 38-39, 41
- RFID
 - cartouche de réactifs 24
 - dépannage 44
 - PR2 23
 - suivi 1
- RTAcomplete.txt 50
- RunInfo.xml 48, 50
- runParameters.xml 48

S

- Sequencing Analysis Viewer 8
- Service de surveillance Illumina Proactive 12
- status.xml 50
- suite logicielle 5
- suppression de fichiers et de dossiers 38

surveillance de l'analyse 26

T

test de volume 45

U

Universal Copy Service 5

V

visualiseur d'analyse de séquençage 26

volumes de lavage 46

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

© 2021 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

illumina[®]