

# MiSeqDx 儀器

適用於 MOS v4 的參考指南

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

根據 Illumina 定序軟體授權協議位於獨立文件中的條款與條件, 軟體將授權給您。如果您不同意此條款與條件, Illumina 將不會將軟體授權給您, 且您不得使用或安裝軟體。

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

若未全文閱讀與明確遵守此處包含的所有指示, 可能造成產品損害、人員受傷 (包括使用者或其他人), 以及對其他財產的損害。

對於不當使用本文所述產品 (包括其零件或軟體), 或任何超出明確書面授權或由 Illumina 授權的客戶獲取該產品相關之使用範圍而造成的損失, Illumina 不承擔任何責任。

© 2023 Illumina, Inc. 保留一切權利。

所有商標均為 Illumina, Inc. 或其各自所有權人所擁有。特定商標資訊請參考 [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html)。

本軟體包括授權給 Illumina 且根據以下授權發佈的 SeqAn 基因庫：

版權所有 © 2010, Knut Reinert, FU Berlin, 保留一切權利。在符合下列條件的情況下, 可重新發佈及使用原始碼和二進位形式, 不論是否經過修改均可：

如重新發佈本原始程式碼, 須保留以上著作權注意事項、此條件清單及下列免責聲明。

如以二進位形式重新發佈, 須在文件及 (或) 發佈時隨附之其他資料中複製以上著作權注意事項、此條件清單及下列免責聲明。

未經事先具體書面許可, 不得將 FU Berlin 或 Knut Reinert 的名稱或其投稿人姓名用於背書或宣傳由本軟體衍生之產品。

本軟體由著作權所有人及投稿人依「現況」提供, 不負任何明示或暗示之瑕疵擔保, 包含但不限於適售性及符合特定用途之暗示擔保。在任何情況下, 對於因使用本軟體而以任何方式造成之任何直接、間接、附隨性、特殊性、懲罰性或衍生性損害 (包括但不限於採購替代商品或服務; 損失使用、資料或收益; 或營業中斷), 著作權所有人或投稿人均不負任何損害賠償責任, 不論該損害產生方式為何或基於合約、無過失責任或侵權行為 (包括過失或其他方面) 之任何損害賠償主張, 即使事先已知悉此種損害發生之可能性。

## 修訂記錄

文件編號	日期	變更內容說明
文件編號 200010452 v01	2023 年 10 月	<ul style="list-style-type: none"><li>• 更新本機執行設定的參考</li><li>• 更新 Illumina Proactive 監控服務章節，納入用於維護和故障排除的「傳送儀器健康功能」。</li><li>• 更新模板線清洗程序。</li><li>• 新增註解至定義 RFID 讀取失敗參數的電子郵件偏好設定。</li></ul>
文件編號 200010452 v00	2021 年 11 月	支援 MOS v4.0 和 Local Run Manager v3.0 的初版。

# 目錄

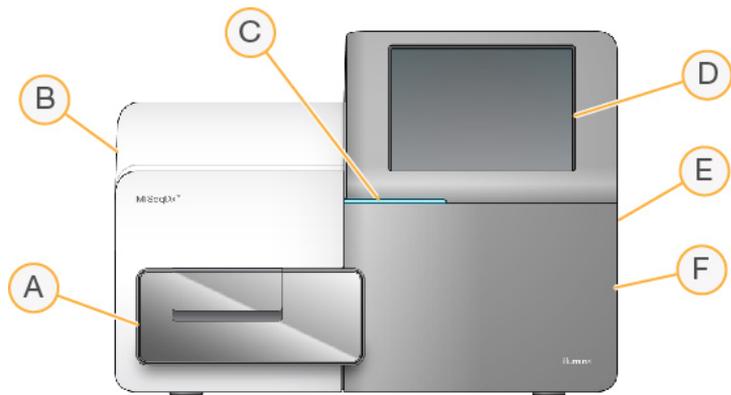
修訂記錄 .....	iii
概覽 .....	1
元件 .....	1
MiSeqDx 軟體 .....	3
Local Run Manager 軟體 .....	4
必要的磁碟空間 .....	5
軟體限制原則 .....	5
防毒軟體 .....	5
定序模式 .....	5
開始使用 .....	7
啟動 MiSeqDx .....	7
設定執行後清洗選項 .....	7
設定自動啟動執行選項 .....	8
開啟 Illumina Proactive Support .....	8
設定電子郵件偏好設定 .....	9
設定預設輸出資料夾位置 .....	9
需要的耗材 .....	10
儲存和處理 .....	11
定序 .....	12
簡介 .....	12
執行期間 .....	12
叢集生成 .....	12
定序 .....	12
分析 .....	12
準備試劑匣 .....	12
登入並遵循定序提示 .....	14
清潔流通池 .....	14
載入流通池 .....	16
載入試劑 .....	17
監視執行 .....	20
進行執行後清洗 .....	21
維護 .....	26
維修頻率 .....	26

預防性維護 .....	26
執行維護清洗 .....	26
執行待機清洗 .....	29
儀器關機 .....	31
<b>疑難排解 .....</b>	<b>32</b>
簡介 .....	32
彙整記錄進行疑難排解 .....	32
執行系統檢查 .....	33
暫停或停止執行 .....	33
手動升高試劑匣吸管 .....	34
解決執行設定錯誤 .....	34
解決 RFID 讀取失敗 .....	35
避免在執行期間重新開機 .....	36
疑難排解流率誤差問題 .....	37
執行容積檢測 .....	37
解決試劑冷卻槽溫度錯誤 .....	38
解決 Local Run Manager 分析錯誤 .....	38
配置系統設定 .....	38
<b>輸出資料夾 .....</b>	<b>41</b>
執行資料夾 .....	41
<b>技術協助 .....</b>	<b>42</b>

# 概覽

## 元件

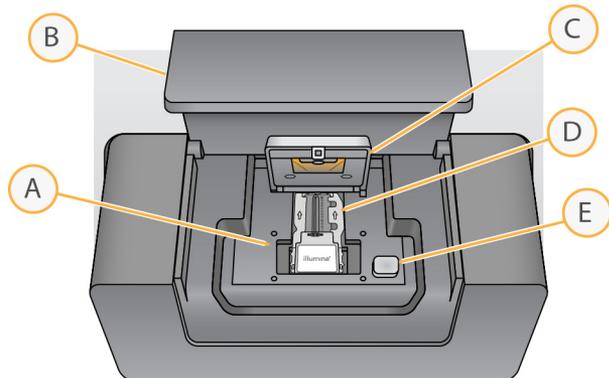
MiSeqDx 具備下列外部零組件：



- A. **流通池室** — 含有在執行時固定流通池的流通池台架。流通池台架馬達將台架移出有機殼的光學模組，用於流通池載入，並在開始執行時放回台架。
- B. **機殼內的光學模組** — 含有可以讓流通池成像的光學零組件。
- C. **狀態列** — 指出流通池狀態：準備定序 (綠色)、處理中 (藍色) 或需要注意 (橘色)。
- D. **觸控螢幕監視器** — 顯示控制軟體介面以供配置系統及執行設定用。
- E. **外部 USB 連接埠** — 便於將檔案與資料從觸控螢幕監視器轉移到儀器電腦。
- F. **試劑室** — 包含溫度適中的試劑、清洗溶液，和用來裝使用過試劑的瓶子。磁性栓鎖固定試劑室門。

MiSeqDx 介面將引導您完成使用觸控螢幕顯示器執行設定的步驟。載入執行零組件需要用到試劑室與流通池室。

## 流通池室

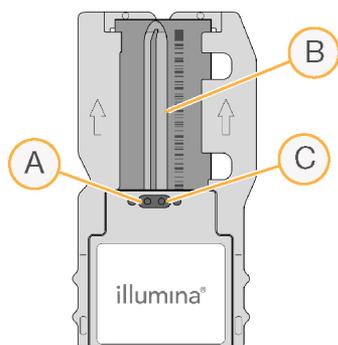


- A. 流通池台架
- B. 流通池室門
- C. 流通池栓鎖
- D. 流通池
- E. 流通池栓鎖釋出按鈕

流通池室可存放流通池台架、熱電站以及與流通池的流體連接。流通池台架可固定流通池，而流通池栓鎖可固定和定位流通池。當流通池栓鎖關閉時，靠近栓鎖鉸鍊處的兩個插銷會自動定位流通池。

位於流通池台架下方的熱電站可控制流通池溫度的變化，是叢集產生與定序的必要零組件。

## 流通池



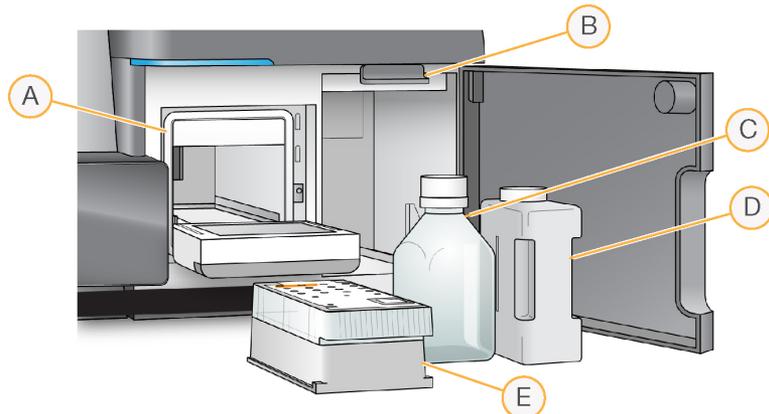
- A. 出料口
- B. 成像區域
- C. 進料口

MiSeqDx 流通池為單次使用的玻璃底盤，是執行叢集產生與定序反應的地方。

試劑透過進料口進入流通池，通過單通道影像區域，然後透過出料口排出流通池。排出流通池的廢棄物被傳輸到廢棄物瓶。

在定序執行期間，單通道在稱為基因模版的小影像區域內成像。

## 試劑室



- A. 試劑冷卻槽
- B. 吸管把手 (顯示於升起位置)
- C. MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶
- D. 廢棄物瓶
- E. 試劑匣

試劑室包含試劑冷卻槽，以及 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶與廢棄物瓶的位置。

在執行期間，試劑冷卻槽固定一個單次使用試劑匣。在儀器清洗期間，試劑冷卻槽固定清洗托盤。在執行期間，軟體會依所執行的程序，在適當的時間點自動將吸管降低進入試劑匣的每個貯池。

在試劑冷卻槽的右邊是兩個大小適合的插槽，一個用來裝 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶，另一個則是用來裝廢棄物瓶。吸管把手將瓶鎖住定位，並將適當的吸管降低至每個瓶中。

試劑經吸管及流控管線被抽吸至流通池。在整個過程，試劑廢棄物被傳輸到廢棄物瓶。

## MiSeqDx 軟體

儀器軟體套件包括可執行定序執行、儀器上分析和相關功能的整合應用程式。

- **MiSeq 作業軟體 (MOS)**—控制儀器操作。MiSeq 作業軟體 (MOS) 介面可引導您完成步驟，載入流通池和試劑，然後再開始執行。進行執行時，品質統計概覽也會隨之出現。軟體已安裝並在儀器上執行。
- 在執行期間，MOS 會操作流通池台架、分注試劑、控制流通池溫度及拍攝流通池上的叢集影像。MOS 會依照 Local Run Manager 軟體內指定的參數來執行。
- **即時分析 (RTA) 軟體**—進行影像分析和鹼基判定，並針對各循環各鹼基指派品質評分。影像會暫時儲存於執行資料夾供 RTA 進行處理，完成 RTA 分析後便會自動刪除。
- **Local Run Manager 軟體**—儀器上的整合式解決方案，可用於建立執行、監控狀態、分析定序資料和檢視結果。Local Run Manager 也可追蹤樣本資訊及控制使用者權限。軟體將在儀器電腦上運作，可透過網頁瀏覽器檢視。請參閱第 4 頁中的 [Local Run Manager 軟體](#)。

## 狀態圖示

無論儀器正在初始化或啟動，控制軟體介面上的狀態圖示會顯示條件的變更。圖示上的數字代表該狀態的條件數量。

當執行狀態改變時，圖示會閃爍以提醒您注意。選擇圖示，以檢視條件的說明。選擇 **[Acknowledge]** (確認) 清除訊息，然後選擇 **[Close]** (關閉) 以關閉對話方塊。

選擇視窗頂端邊緣的圖示，篩選出現在狀態視窗的訊息類型。選擇一個圖示，切換顯示或隱藏情況。

狀態圖示	狀態名稱	說明
	狀態 OK	沒有變化。系統正常。
	警告	警告不會停止執行。然而，有些警告要求在繼續之前採取行動。
	錯誤	錯誤通常會停止執行，一般會在繼續執行之前要求採取行動。

## 感應器指示燈

三個感應器指示燈顯示在各介面畫面底部，用於表示儀器零組件的狀態。

圖1 感應器指示燈



從左到右，感應器指示燈代表以下的零組件：

- 試劑冷卻槽的溫度 (°C)
- 流通池的溫度 (°C)

## Local Run Manager 軟體

Local Run Manager 軟體是儀器上的整合式解決方案，可用於記錄執行樣本、指定執行參數、監控狀態、分析定序資料和檢視結果。

此外，Local Run Manager 可控制使用者驗證，授予各種存取層級的權限給使用者。權限會儲存在資料庫檔案內以供 MiSeqDx 參考。Local Run Manager 也可監控定序執行。如需更多資訊，請參閱適用於 MiSeqDx 的 Local Run Manager v4 軟體指南 (文件編號 200046657)。

## 在分析期間的定序

MiSeqDx 儀器運算資源專門用於定序或分析。

使用 Local Run Manager 時，如果在稍早執行的次要分析完成之前，便在 MiSeqDx 之上展開新的定序執行，畫面會出現確認對話方塊。確認要開始新的定序執行後，停止先前執行的次要分析，直到新的執行完成定序。

新執行完成定序後，先前執行的次要分析會自動重頭開始。

## 必要的磁碟空間

整合式儀器電腦有大約 650 GB 的儲存容量。

在開始執行之前，軟體會檢查可用的磁碟空間。如果磁碟空間不足無法執行，隨即顯示軟體提示。訊息指出執行所需的磁碟空間，以及必須清除多少磁碟空間才能繼續執行。

如果系統提示需要清出可用的磁碟空間，請視情況移動或刪除舊的執行資料夾。

## 軟體限制原則

Windows 軟體限制原則 (SRP) 會使用規則讓系統僅能執行指定的軟體。對於 MiSeqDx 而言，SRP 規則以憑證、檔案名稱、副檔名及目錄為基礎。

根據預設，系統會開啟 SRP 以防止非必要的軟體在控制電腦上執行。只有 sbsadmin 使用者可以關閉 SRP。

IT 人員或系統管理員可以新增或移除規則，以自訂安全等級。如果系統已加入網域，則本機群組原則物件 (GPO) 可能會自動修改這些規則及關閉 SRP。

如需設定 SRP 的相關資訊，請參閱 [「Illumina 儀器控制電腦安全性與網路」](#)。



注意

關閉 SRP 將無法享有其所提供的保護。變更規則會覆寫預設的保護設定。

## 防毒軟體

強烈建議選用防毒軟體，保護儀器控制電腦避免病毒攻擊。安裝防毒軟體時，您需要暫時關閉 Windows 軟體限制原則 (SRP)。

如需設定防毒軟體和 SRP 的相關資訊，請參閱 [「Illumina 儀器控制電腦安全性與網路」](#)。

## 定序模式

開機進入儀器時，Windows 會顯示 **[Choose an operating system]** (選擇作業系統) 畫面。此畫面可讓您選擇要開機進入的作業系統定序模式—研究 (RUO) 或診斷 (Dx)。如果等待 10 秒，系統會自動選擇預設模式。您可以隨時變更預設模式和預設開機模式計時器。

- 選取模式後，您必須將系統重新開機才能切換模式。請參閱第 6 頁中的 [將系統軟體重新開機](#)。

- 在 RUO 模式和 Dx 模式之間切換時，系統會提示您進行執行後清洗。清洗狀態在切換模式時不會保留。

若要使用重新開機功能，一般使用者必須具有 Windows 管理員層級存取權或重新開機至研究模式權限。



### 注意

還原原廠作業系統 (RUO/Dx) 僅適用於 Illumina 現場維修。此選項會永久刪除 C 槽的所有資訊，並將作業系統還原至原始狀態。您必須讓 Illumina 現場維修工程師還原系統才能選擇此選項。還原流程開始後即無法取消。只在 Illumina 現場維修推薦時選擇此選項。

### 若要變更預設開機模式：

1. 選擇 **[Change defaults or choose other options]** (變更預設或選擇其他選項)。
2. 在 [Options] (選項) 畫面上，選擇 **[Choose a default operating system]** (選擇預設作業系統)。
3. 選擇慣用的開機選項。
4. 選擇 [Back] (上一步) 箭頭以返回 **[Options]** (選項) 畫面。

### 若要變更預設開機模式計時器：

1. 選擇 **[Change defaults or choose other options]** (變更預設或選擇其他選項)。
2. 在 [Options] (選項) 畫面上，選擇 **[Change the timer]** (變更計時器)。
3. 在 [Change the timer] (變更計時器) 畫面上，選擇想要的計時器。
4. 選擇 [Back] (上一步) 箭頭以返回 **[Options]** (選項) 畫面。



### 警告

在 Windows 10 中，如果使用者將系統重新開機，則只有該使用者能在重新開機後登入系統。

## 將系統軟體重新開機

使用 [Reboot] (重新開機) 指令將系統軟體重新開機。定期維護期間不需要將軟體重新開機。

- 從 [Main Menu] (主功能表) 選擇 **[Reboot]** (重新開機)。

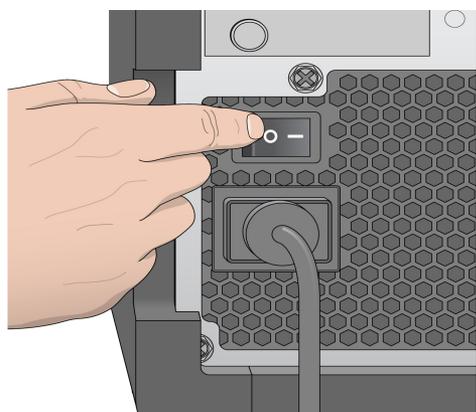
# 開始使用

## 啟動 MiSeqDx

1. 將儀器背面的電源開關切換至 | [on] (開啟) 位置。

**附註** 為了獲得最佳性能，請讓儀器持續運行。如必須關閉儀器，請參閱第 31 頁中的 [儀器關機](#)。等待至少 60 秒之後，再將電源開關轉回到 [ON](開) 位置。

圖2 電源開關位置



2. 請等候系統載入，然後選擇作業系統並登入。若有需要，請諮詢您的設施管理員，以取得使用者名稱和密碼。  
如需作業系統和定序模式選項的詳細資訊，請參閱第 5 頁中的 [定序模式](#)。  
載入作業系統後，MiSeq 作業軟體 (MOS) 將自動啟動並初始化系統。請注意，如果選擇 RUO 模式，MiSeq 控制軟體 (MCS) 就會自動啟動。
3. 對於 Local Run Manager，若使用者管理已啟用，使用您的 Local Run Manager 使用者名稱與密碼登入，並選擇 **Next**(下一步)。

## 設定執行後清洗選項

每次執行之後皆必須清洗儀器。在設定後續的執行之前，軟體要求進行清洗。[Post Run Wash] (執行後清洗) 選項會指定預設執行的清洗類型。執行後清洗需要大約 30 分鐘。維護清洗需要大約 90 分鐘。

1. 從 [Main Menu] (主功能表) 選擇 **[System Settings]** (系統設定)。
2. 選擇 **Run Settings**(執行設定) 標籤。
3. 選擇 **[Post Run Wash]** (執行後清洗) 或 **[Maintenance Wash]** (維護清洗)。

## 設定自動啟動執行選項

MiSeqDx 可設定為成功自動檢查後自動啟動定序執行。Local Run Manager 必須具有管理員層級存取權才能設定此功能。

1. 從 [Main Menu] (主功能表) 選擇 **[System Settings]** (系統設定)。
2. 選擇 Run Settings (執行設定) 標籤。
3. 選擇 **Start run after pre-run check. Do not prompt for confirmation.** (執行前檢查後開始執行, 不要提示確認。) 核取方塊。  
如果停用此設定, 則需要在執行前檢查後手動開始執行。

## 開啟 Illumina Proactive Support

1. 從 [Main Menu] (主功能表) 選擇 **[System Settings]** (系統設定)。
2. 選擇 Proactive 標籤。
  - 選取 **[Send instrument health]** (傳送儀器健康) 以啟用 Illumina Proactive 監控服務。軟體介面的設定名稱可能與本指南內的設定名稱有所不同, 視使用的 MOS 版本而定。  
開啟此設定後, 系統會將儀器效能資料傳送至 Illumina。此資料可協助 Illumina 更輕鬆地進行疑難排解並偵測潛在故障, 以便執行主動維護作業並充分提高儀器正常運作時間。如需此服務優勢的更多資訊, 請參閱 *Illumina 主動技術說明 (文件 #100000052503)*。  
本服務:
    - 不會傳送定序資料。
    - 需將儀器連線至可存取網際網路的網路。
    - 預設為關閉。若選擇加入此服務, 請啟用 **[Send Instrument Health]** (傳送儀器健康) 設定。
  - 選取 **[Send instrument health information to Illumina to aid technical support]** (將儀器健康狀態資訊傳送至 Illumina 以協助其提供技術支援) 以啟用 Illumina Proactive 監控服務。軟體介面的設定名稱可能與本指南內的設定名稱有所不同, 視使用的 MOS 版本而定。  
開啟此設定後, 系統會將儀器效能資料傳送至 Illumina。此資料可協助 Illumina 更輕鬆地進行疑難排解並偵測潛在故障, 以便執行主動維護作業並充分提高儀器正常運作時間。如需此服務優勢的更多資訊, 請參閱 *Illumina 主動技術說明 (文件 #100000052503)*。  
本服務:
    - 不會傳送定序資料。
    - 需將儀器連線至可存取網際網路的網路。
    - 預設為關閉。若要選擇加入此服務, 請啟用 **[Send instrument health information to Illumina to aid technical support]** (將儀器健康狀態資訊傳送至 Illumina 以協助其提供技術支援) 設定。
3. 從下拉清單選擇儀器要連線的主控區域。

## 設定電子郵件偏好設定

MiSeqDx 可以設定為在完成 RTA 分析、完成儀器上次要分析，或發生重大的 MiSeqDx 軟體錯誤時，傳送電子郵件通知。此設定通常在安裝 MiSeqDx 期間完成。Local Run Manager 必須擁有管理員存取層級才能使用此功能。

1. 從 [Main Menu] (主功能表) 選擇 **[System Settings]** (系統設定)。
2. 選擇 **[Email Notifications]** (電子郵件通知) 標籤。
3. 輸入以下資訊：
  - **[Local SMTP email server address]** (本機 SMTP 電子郵件伺服器位址) — 使用畫面上的鍵盤輸入本機 SMTP 電子郵件伺服器位址。必要時，請聯絡設施管理員以取得該資訊。
  - **[Sender address]** (寄件人電子郵件地址) — 使用畫面上的鍵盤輸入寄件人電子郵件地址。此地址可以是您的電子郵件地址，或是指定為寄送電子郵件通知的不同地址。寄件人的電子郵件地址，必須和電子郵件伺服器位址相同。
  - **[Recipient addresses]** (收件人地址) — 使用畫面上的鍵盤輸入要接收通知的每位收件人之電子郵件地址。以逗號區隔每個不同的電子郵件地址。選擇 **[Test]** (測試) 以傳送測試電子郵件給通知收件人。
  - **[Notify via email when]** (透過電子郵件通知的時機) — 選擇觸發通知之每個執行事件的勾選方塊。

**附註** 診斷執行可允許一個 RFID 讀取失敗。如果無法讀取兩個耗材的 RFID，軟體無法繼續進行下一個執行設定步驟。如發生此錯誤，請聯絡 Illumina 技術支援部門。如果您選取 **[Notify via email when]** (透過電子郵件通知的時機) 選項和 **[On-Instrument analysis is complete]** (完成儀器上分析時) 核取方塊，則只有在執行未設定為傳送定序資料至 BaseSpace Sequence Hub 時，才會傳送電子郵件通知。

## 設定預設輸出資料夾位置

MiSeqDx 輸出資料夾會設定分析輸出檔案的預設位置。資料夾可以在本機網路或是儀器電腦上。請將預設 [Output Folder] (輸出資料夾) 變更到網路位置，以利共享或長期儲存。

必須擁有 Local Run Manager 管理員使用者存取層級才能配置此功能。

1. 從 [Main Menu] (主功能表) 選擇 **[System Settings]** (系統設定)。
2. 選擇 Run Settings (執行設定) 標籤。
3. 在 [Output Folder] (輸出資料夾) 欄位中，輸入資料夾位置的路徑。  
請務必輸入完整的 UNC 路徑，例如 \\YourServer\Path\OutputFolder。



### 警告

如果您使用對應磁碟機 (例如 z:\OutputFolder)，則定序執行的分析不會完成。

## 需要的耗材

### 定序耗材

執行 MiSeqDx 所需的定序耗材由體外診斷套組分別提供。

### 使用者提供的耗材

在開始執行之前，確定備有以下使用者提供的耗材。

耗材	用途
酒精棉球，70% 異丙基 或 乙醇，70%	清潔流通池玻璃和台架
低棉絮實驗室拭紙	清潔流通池台架
拭鏡紙，4 x 6 英寸	清潔流通池
MiSeq 試管	清洗模板線 (選用)
NaOCl, 5%	清洗模板線 (選用)
Tween 20	清洗儀器
鑷子，方頭塑膠 (選用)	從流通池運送容器移出流通池
水，實驗室等級	清洗儀器

### 實驗室等級的用水指導原則

執行儀器的程序請一律使用實驗室等級的水或者去離子水。嚴禁使用自來水。

僅使用以下等級或相同等級的水：

- 去離子水
- Illumina PW1
- 18 Megohms (MΩ) 水
- Milli-Q 水
- Super-Q 水
- 分子生物學等級的用水

## 儲存和處理

零組件	規格
溫度	運輸和儲存: -10°C 至 40°C (14°F 至 104°F) 作業條件: 19°C 至 25°C (66°F 至 77°F)
濕度	運輸和儲存: 非冷凝濕度 作業條件: 30–75% 相對濕度 (無冷凝)

# 定序

## 簡介

若要在 MiSeqDx 上進行執行，請依照本章中所述的設定步驟進行。在開始執行之後，不需要其他的使用者介入。

在完成定序執行之後，執行儀器清洗。

## 執行期間

執行期間依進行的循環數而定。根據 MiSeqDx 試劑的版本，MiSeqDx 可以執行最多  $2 \times 301$  定序週期的雙端定序執行。

### 讀數中的循環數

一個讀數中執行的循環數比所分析循環數多一循環。額外的一循環為定相與預定相計算所需。

例如，雙端 150 循環執行進行兩個 151 循環的讀數 ( $2 \times 151$ )，總共是 302 循環，加上索引讀數的任何循環。在執行結束時，分析  $2 \times 150$  個週期。

## 叢集生成

在叢集產生期間，單一 DNA 分子凝固在流通池表面，然後橋式放大以形成叢集。

## 定序

在叢集產生之後，使用 LED 與四個螢光標示的雙去氧核苷酸各自專屬的濾網組合，進行叢集的成像。在一個流通池基因模版成像完成之後，流通池移入固定位置，以曝露下一個基因模版。重複此流程，直到基因模版成像為止。分析影像後，軟體會執行主要分析，包括鹼基判定、過濾與品質評分。

## 分析

執行完成後，Local Run Manager 分析軟體會隨即自動啟動並執行次要分析。

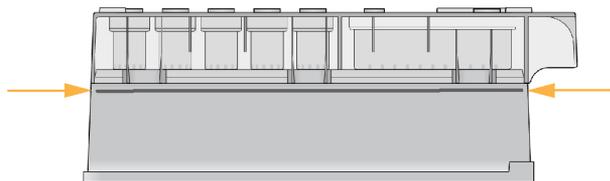
如果另一台電腦與 MiSeqDx 位於相同的網路連線，則可以使用該電腦的網際網路連線監控次要分析。請參閱「適用於 MiSeqDx 的 Local Run Manager v4 軟體指南 (文件編號 200046657)」。

## 準備試劑匣

以下說明將描述如何用室溫水浴槽解凍試劑匣。

1. 在裝有充足室溫去離子水的水浴槽中解凍試劑匣，以浸沒試劑匣的底部至其所指示的水位線。水量請勿超過最高水位線。
2. 將試劑匣從  $-25^{\circ}\text{C}$  儲存庫中取出，移至  $-15^{\circ}\text{C}$  儲存庫。
3. 將試劑匣放在裝有充足室溫去離子水的水浴槽中，以浸沒試劑匣的底部。水量請勿超過試劑匣上所指示的最高水位線。

圖3 最高水位線



4. 讓試劑匣在室溫水浴槽中解凍，直到其完全解凍。  
解凍時間範圍根據試劑匣的類型，約為 60 至 90 分鐘不等。詳情請參閱分析法仿單。
5. 將試劑匣移出水浴槽並在工作台上輕輕拍打，去除試劑匣底部的水份。擦乾匣底。確定試劑匣頂端沒有噴濺的水。

## 檢查試劑匣

1. 反轉試劑匣十次以混合解凍後的試劑，隨後檢查是否所有位置均已解凍。
2. 檢查位置 1、2 和 4 的試劑，確定混合均勻且不含沉澱。

附註 匣中的試劑必須完全解凍並混合，以確保正確定序。

3. 在工作台上輕輕拍打試劑匣以減少試劑內的氣泡。

附註 MiSeqDx 吸管會伸至各貯池底部以吸取試劑，所以貯池內務必不含氣泡。

4. 將試劑匣放到冰上，或者暫置於  $2^{\circ}\text{C}$  至  $8^{\circ}\text{C}$  中 (最長六小時)，直到準備好設定執行。若要獲得最佳效果，請直接進入載入樣本和設定執行的步驟。

## 將樣本基因庫載入至匣上

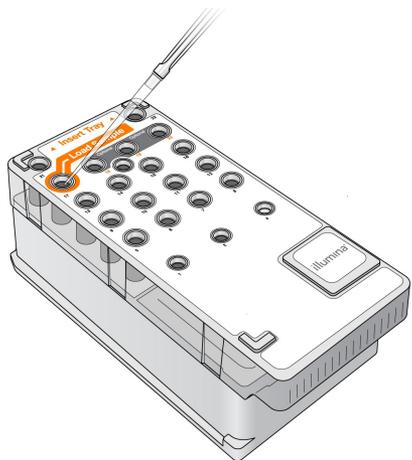
在試劑匣完全解凍並準備就緒可供使用時，即可將樣本載入匣中。

1. 使用乾淨的空 1 毫升滴管管尖分別刺穿標示為 **[Load Samples]** (載入樣本) 的試劑匣貯池上的錫箔密封。

附註 請勿刺穿任何其他試劑位置。其他試劑位置會在執行期間自動刺穿。

2. 用滴管吸取 600 微升備妥的稀釋 Amplicon 基因庫 (DAL) 樣本基因庫，放入 **[Load Samples]** (載入樣本) 的貯池。避免接觸錫箔密封。
3. 載入樣本後，檢查貯池中是否有氣泡。如有氣泡，請在工作台上輕輕拍打試劑匣以清除氣泡。

圖4 載入基因庫



4. 使用 MiSeq 作業軟體 (MOS) 介面直接跳至執行設定步驟。

## 登入並遵循定序提示

1. 在 [Home] (首頁) 畫面中選擇 **[Sequence]** (定序)。
2. 如果開啟登入畫面, 請輸入適當的使用者認證, 然後選擇 **[Next]** (下一步)。登入後, 再次選擇 **[Sequence]** (定序)。
3. 從清單中選擇執行。
4. [選用] 選擇 **[Preview Samples]** (預覽樣本) 以檢視執行中的樣本清單。
5. 選擇 **[Next]**(下一步)。
6. 遵循提示載入流通池和試劑, 並設定執行 (於後續章節中說明)。

## 清潔流通池

流通池浸在流通池容器的儲存緩衝溶液中。

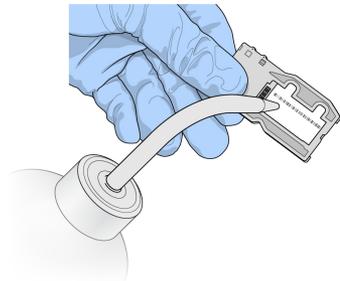
1. 戴上一雙新的無粉手套。
2. 使用塑膠鑷子從塑膠匣底部夾住流通池, 並從流通池容器中移出。

圖5 移除流通池



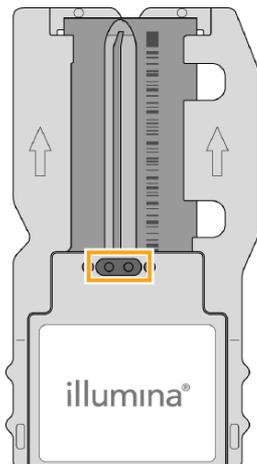
3. 以實驗室等級的水輕輕沖洗流通池，確認已經徹底清除玻璃和塑膠匣多餘的鹽分。  
多餘的鹽分會影響流通池在儀器的定位。如果鹽分凝結於影像區域，成像也會受到影響。

圖6 沖洗流通池



4. 留意黑色的流通池口墊片 (如下圖所示)，使用無棉絮鏡片清潔拭紙徹底擦乾流通池與匣子。輕輕拍乾墊片與相鄰的玻璃區域。

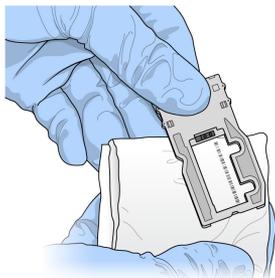
圖7 流通池口與墊片



5. 使用酒精棉球清潔流通池玻璃。確定玻璃沒有條痕、指紋與棉絮或拭紙纖維。

附註 流通池口墊片避免使用酒精棉球。

圖8 擦乾流通池



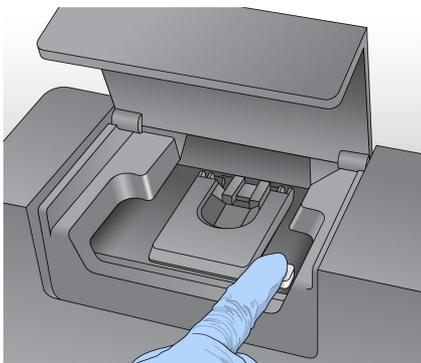
6. 以無棉絮鏡片清潔拭紙擦乾多餘的酒精。

7. 確定流通池口沒有阻塞，且墊片完好地固定在流通池口。  
如果墊片移位，輕輕壓回固定，直到穩固地位於流通池口。

## 載入流通池

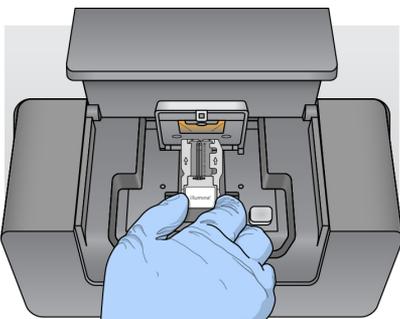
1. 升起流通池室門，然後將釋出按鈕壓向流通池栓鎖的右邊。流通池栓鎖隨即打開。

圖9 打開流通池栓鎖



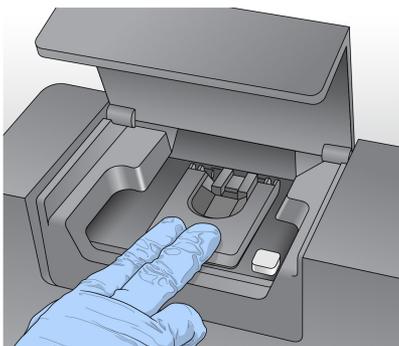
2. 確保流通池台架沒有棉絮。如果有棉絮或其他碎片，使用酒精棉球或以乙醇或異丙醇浸濕的無棉絮拭紙清潔流通池台架。仔細擦拭流通池台架的表面，直到潔淨且乾燥為止。
3. 握著流通池夾匣的邊緣，將其放到流通池台架上。

圖10 將流通池置於台架上



4. 輕輕壓下流通池栓鎖以關閉流通池。  
流通池栓鎖關閉時，校準插銷會讓流通池放置在定位。聽到喀答聲表示流通池栓鎖已固定。

圖11 關閉流通池栓鎖



5. 如果軟體無法辨識流通池的 RFID, 請參閱第 35 頁中的[解決 RFID 讀取失敗](#)。

**附註** 如果無法讀取 RFID, 可以手動輸入識別資訊。不過, 在體外診斷執行中, 軟體僅允許三個具備 RFID 標籤的零組件(流通池、試劑匣、MiSeqDx SBS 溶液 (PR2)) 其中一個失敗。如需更多資訊, 請參閱第 35 頁中的[解決 RFID 讀取失敗](#)。

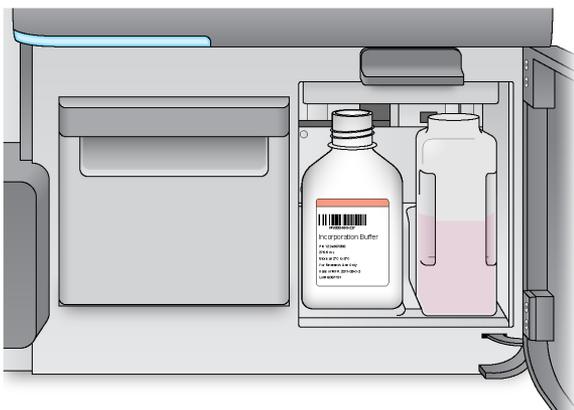
6. 關閉流通池室門。
7. 選擇 **[Next]**(下一步)。

## 載入試劑

### 載入 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 並檢查廢棄物瓶

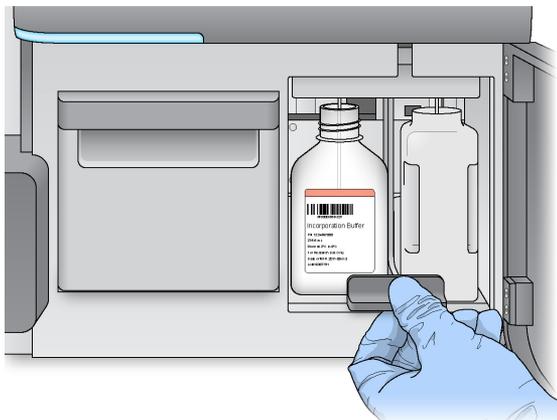
1. 將 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶從 2°C 儲存庫中取出, 移至 8°C 儲存庫。翻轉以混合, 然後移除蓋子。
2. 打開試劑室門。
3. 升起吸管把手直到鎖定為止。
4. 移除清洗瓶並載入 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶。

圖12 載入 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶。



5. 將廢棄物瓶的內容物倒入適當的容器中。
6. 慢慢降低吸管把手。確定吸管降低進入 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 與廢棄物瓶。

圖 13 降低吸管把手



7. 如果軟體無法辨識 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶的 RFID, 請參閱第 35 頁中的[解決 RFID 讀取失敗](#)。

**附註** 如果無法讀取 RFID, 可以手動輸入識別資訊。不過, 在體外診斷執行中, 軟體僅允許三個具備 RFID 標籤的零組件(流通池、試劑匣、MiSeqDx SBS 溶液 (PR2)) 其中一個失敗。如需更多資訊, 請參閱第 35 頁中的[解決 RFID 讀取失敗](#)。

8. 選擇 **[Next]**(下一步)。

## 載入試劑匣

1. 打開試劑冷卻槽門。

**附註** 不要讓試劑冷卻槽門長期開著。

2. 握住末端有 Illumina 標籤的試劑匣, 並將試劑匣送入試劑冷卻槽, 直到試劑匣停止為止。

圖 14 載入試劑匣



3. 關閉試劑冷卻槽門。
4. 如果軟體無法辨識試劑匣的 RFID, 請參閱第 35 頁中的[解決 RFID 讀取失敗](#)。

**附註** 如果無法讀取 RFID, 可以手動輸入識別資訊。不過, 在體外診斷執行中, 軟體僅允許三個具備 RFID 標籤的零組件 (流通池、試劑匣、MiSeqDx SBS 溶液 (PR2)) 其中一個失敗。如需更多資訊, 請參閱第 35 頁中的[解決 RFID 讀取失敗](#)。

5. 要開始執行, 請選擇以下選項。
  - 如果系統未設定為成功檢查後自動啟動, 請選擇 **[Start Run]** (開始執行)。
  - 如果系統已設定為成功檢查後自動啟動, 則自動開始定序執行。您無需在場。然而, 如果在檢查期間出現任何錯誤, 執行將不會自動開始。

**附註** 如果試劑冷卻槽溫度超出範圍, 可以防止啟動定序執行。請參閱第 38 頁中的[解決試劑冷卻槽溫度錯誤](#)。

## 開始執行之前的重要事項



### 警告

**MiSeqDx 對振動敏感。在開始執行之後碰觸儀器, 可能會對定序結果產生不良影響。**

載入試劑匣並關閉試劑室門後, 請勿打開流通池室或試劑室門。除了暫停執行外, 請勿碰觸儀器監視器。如需更多資訊, 請參閱第 33 頁中的[暫停執行](#)。



### 警告

開始執行前務必先關閉 MiSeqDx 上的所有檔案, 且請勿在執行期間開啟檔案。

## 監視執行

在執行時，在儀器上使用 [Sequencing] (定序) 畫面，監視執行詳盡資訊。Sequencing (定序) 畫面是僅供檢視。

若儀器連接於同一網路，您也可使用 Local Run Manager 遠端監控執行。

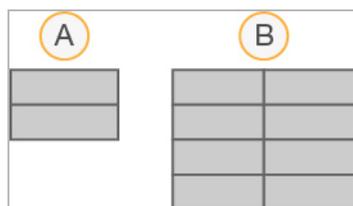
Local Run Manager 可顯示執行進度及定序資訊 (完整叢集、% 叢集 PF、讀數 1 及讀數 2 %>= Q30、最後一個評分週期)。如需更多資訊，請參閱第 4 頁中的 [Local Run Manager 軟體](#)。

1. 在儀器的 [Sequencing] (定序) 畫面上，監控顯示的執行進度、強度與品質評分。

- **[Run Progress]** (執行進度) — 在狀態列顯示執行進度，並列出已完成的循環數目。
- **[Intensity]** (強度) — 顯示每個基因模版的第 90 個百分點的叢集強度數值。

強度區域的圖形代表成像的基因模版數量。

- 如果流通池僅在頂端表面成像，畫面會出現一個單欄圖形。
- 如果流通池在頂端表面與底部表面成像，則會出現一個兩欄圖形。



- A. 表示兩個基因模版，僅有頂端表面
- B. 表示四個基因模版，頂端與底部表面

- **Q-Score All Cycles** (Q-評分所有週期) — 顯示鹼基大於 Q30 的平均百分比，這是品質評分 (Q-評分) 衡量。Q-評分是錯誤鹼基判定的或然率預測。Q-評分在循環 25 之後才會開始計算。

Q-評分	錯誤鹼基判定的或然率
Q40	1/10,000
Q30	1/1,000
Q20	1/100
Q10	1/10

- **[Cluster Density (K/mm<sup>2</sup>)]** (叢集密度 (K/mm<sup>2</sup>)) — 顯示該執行每平方公釐的叢集數量。最好的情況，預期叢集密度為 800K/mm<sup>2</sup>。

**附註** 鹼基判定的純度是最大訊號的強度比率除以兩個最大訊號的總和。如果在前 25 循環中，一個以上的鹼基判定具有小於 0.6 的純度數值，讀數不會通過品質濾網。

- **[Estimated Yield (Mb)]**(估計的產量 (Mb)) — 顯示該執行所判定的預測鹼基數量，測量單位為百萬鹼基。此資料僅在週期 25 後出現。
2. 在執行完成時，會出現 **[Next]** (下一步) 的按鈕。在進行之前，審查 **[Sequencing]** (定序) 畫面上的結果。

**附註** 在選擇 **[Next]** (下一步) 之前，都可以檢視 **[Sequencing]** (定序) 畫面。在選擇 **[Next]** (下一步) 之後，無法返回 **[Sequencing]** (定序) 畫面。

3. 選擇 **[Next]** (下一步) 離開 **[Sequencing]** (定序) 畫面，並進入執行後清洗。

## 模板生成

即時分析 (RTA) 將定序執行的前四個循環用於模板產生。模板產生是一個流程，其中整個流通池表面的叢集位置是根據 X 與 Y 座標位置而定義。

在產生叢集位置的模板之後，在成像的每個後續循環所製造的影像，都會根據模板校準。萃取四個核苷酸顏色通道內的每個叢集強度，並從標準化的叢集強度產生鹼基判定。

## 執行計量

在執行期間的不同時間點，**[Sequencing]** (定序) 畫面出現執行計量。在叢集產生步驟時，沒有計量會出現。

在定序開始之後，以下的計量會出現在指定的循環：

循環	指標
循環 1-4	強度
循環 4-25	強度與叢集密度
循環 25 到執行結束	強度、叢集密度、% PF、產量與 Q 評分

## 進行執行後清洗

執行後清洗是定序執行之間執行的標準儀器清洗程序。在完成一次定序執行之後，請務必執行儀器清洗。依照軟體提示以載入沖洗零組件並執行清洗。執行後清洗需要大約 20 分鐘。

在執行後直接開始清洗。在設定後續的執行之前，儀器清洗是必要的。若不是在完成執行後直接進行執行後清洗，請使用 **[Perform Wash]** (進行清洗) 畫面上的指令來啟動清洗。

以下列方式的定期儀器清洗，確保持續的效能：

- 從流控管線與吸管沖洗任何剩餘的試劑
- 避免流控管線與吸管中的鹽分累積與結晶
- 避免前一次執行的交叉汙染

您可以選擇進行一次執行後清洗，包括使用次氯酸鈉溶液 (NaOCl) 進行模板線清洗。清洗需時大約 30 分鐘。請參閱第 23 頁中的 [模板線清洗程序](#)。

附註 將用過的流通池留在儀器上。流通池必須載於儀器之上以執行儀器清洗。

### 使用者提供的耗材

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, 目錄 # P7949)
- 實驗室等級水
- NaOCl (進行包括一次模板清洗的執行後清洗時使用)
- MiSeq 試管 (零件 #MS-102-9999) (用於包括一次模板線清洗的執行後清洗)

### 程序

1. 以 Tween 20 與實驗室等級的水準備新鮮的清洗溶液, 如下:
  - a. 將 5 毫升的 100% Tween 20 添加到 45 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 10% 的 Tween 20。
  - b. 將 25 毫升的 10% Tween 20 添加到 475 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 0.5% 的 Tween 20 清洗溶液。
  - c. 翻轉數次加以混合。
2. 以新鮮的 0.5% Tween 20 清洗溶液準備清洗零組件, 如下:
  - a. 將 6 毫升的清洗溶液添加到清洗托盤的每個貯池內。
  - b. 將 350 毫升清洗溶液添加到 500 毫升清洗瓶。
3. 從 [Post-Run Wash] (執行後清洗) 畫面, 選擇 **[Start Wash]** (開始清洗)。軟體自動升起試劑冷卻槽中的吸管。等候數秒以確定吸管完全升起, 再繼續進行。  
請勿選擇 [Post-Run Wash] (執行後清洗) 畫面上的 **[Perform optional template line wash]** (進行選擇性模板線清洗)。模板線清洗需要不同的程序。請參閱第 23 頁中的 [模板線清洗程序](#)。
4. 打開試劑室門與試劑冷卻槽門, 並從冷卻槽滑出用過的試劑匣。
5. 將清洗托盤送入試劑冷卻槽, 直到停止為止, 然後關閉試劑冷卻槽門。
6. 升起 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶與廢棄物瓶前面的吸管把手, 直到鎖定就位。
7. 移除 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶, 並以清洗瓶取代。

附註 在每次執行之後棄置 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶。不要重覆使用任何剩餘的 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2)。

8. 移除廢棄物瓶, 並妥善棄置內容物。將廢棄物瓶放回試劑室。



## 警告

這組試劑可能含有有害的化學物質。吸入、誤食、皮膚接觸與眼睛接觸都可能造成人員傷害。應適當通風，以處理試劑中的有害物質。為避免曝露於危險之中，請穿戴適當的保護設備，包括護眼罩、手套和實驗衣。將已使用的試劑視為化學廢棄物處理，並按照適用的地區、國家和當地法律與法規棄置。如需其他環境、健康和 safety 資訊，請參考 SDS，網址是：[support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html)。

9. 慢慢降低吸管把手，確定吸管降低進入清洗瓶與廢棄物瓶。
10. 關閉試劑室門。
11. 選擇 **[Next]**(下一步)。執行後清洗隨即開始。

在清洗完成之後，將使用過的流通池、清洗托盤，以及含有剩餘清洗溶液的清洗瓶留在儀器上。

**附註** 吸管留在下方位置是正常的。將未使用的清洗溶液留在清洗托盤與清洗瓶之內，以避免吸管乾掉，並防止空氣進入系統。

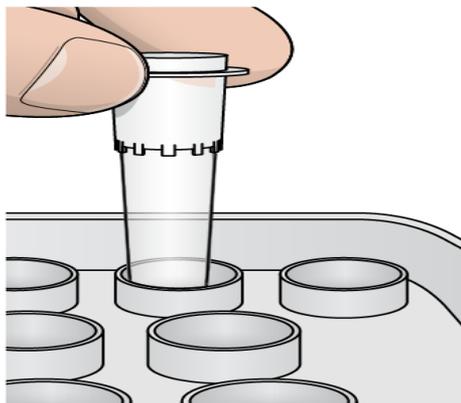
## 模板線清洗程序

1. 按照以下方式，以 Tween 20 與實驗室等級的水準備新鮮的清洗溶液。
  - a. 將 5 毫升的 100% Tween 20 添加到 45 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 10% 的 Tween 20。
  - b. 將 25 毫升的 10% Tween 20 添加到 475 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 0.5% 的 Tween 20 清洗溶液。
  - c. 翻轉五次加以混合。
2. 按照以下方式，以實驗室等級的水製準備新鮮 NaOCl 清洗溶液。
  - a. 將 36  $\mu$ l 的 5% NaOCl 添加至 864  $\mu$ l 實驗室等級的水中。如此可配製成 1:25 的 NaOCl 稀釋溶液。
  - b. 將 50  $\mu$ l 的 1:25 NaOCl 稀釋溶液添加至裝在 MiSeq 試管中的 950  $\mu$ l 實驗室等級水中 (零件編號 MS-102-9999)。

**附註** 請務必使用正確濃度的 NaOCl。請確定有檢查產品標籤上的 NaOCl 百分比。如果濃度過高，可能會使後續執行的叢集產生失敗。如果 5% NaOCl 不可用，請使用實驗室等級的水製備 1 毫升的 0.01% NaOCl 溶液。請勿在維護清洗或待機清洗中使用 NaOCl。

3. 按照以下方式，以新鮮的清洗溶液準備清洗零組件。
  - a. 將 6 ml 的清洗溶液添加到清洗托盤的每個貯池內，編號 17 的貯池除外。
  - b. 將 350 毫升清洗溶液添加到 500 毫升清洗瓶。
4. 將含有 0.01% NaOCl 清洗溶液的 MiSeq 試管插入 清洗托盤的貯池 17，直到試管頸部受到托盤沖洗。

圖15 MiSeq 管在清洗托盤的位置 17



**附註** 請確定只將含 NaOCl 的 MiSeq 試管插入托盤的位置 17。將試管插入其他位置可能造成後續執行的叢集產生失敗，並可能損害 MiSeqDx 儀器的流控系統。

5. 在執行完成時，選擇 **[Start Wash]** (開始清洗)。  
軟體自動升起試劑冷卻槽中的吸管。
6. 在 **[Post-Run Wash]** (執行後清洗) 畫面上選擇 **[Perform optional template line wash]** (進行選擇性模板線清洗)。  
使用 VeriSeq PGS 工作流程時，已為您預選了 **Perform option at template line wash** (進行選用模板線清洗)。MCS 會追蹤每次執行後所執行的執行後清洗類型。如果執行後清洗程序沒有選擇 **Perform optional template line wash** (進行選擇性模板線清洗)，下次您開始定序執行時，**Run Review** (執行檢視) 畫面上會顯示訊息提醒您。
7. 打開試劑室門與試劑冷卻槽門，並從冷卻槽滑出用過的試劑匣。
8. 將清洗托盤送入試劑冷卻槽，直到停止為止，然後關閉試劑冷卻槽門。
9. 升起 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶與廢棄物瓶前面的吸管把手，直到鎖定就位。
10. 移除 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶，並以清洗瓶取代。

**附註** 在每次執行之後棄置 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶。不要重覆使用任何剩餘的 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2)。

11. 移除廢棄物瓶，並妥善棄置內容物。將廢棄物瓶放回試劑室。



#### 警告

這組試劑可能含有有害化學物質。吸入、誤食、皮膚接觸與眼睛接觸都可能造成人員傷害。為避免曝露於危險之中，請穿戴適當的保護設備，包括護眼罩、手套和實驗衣。將已使用的試劑視為化學廢棄物處理，並按照適用的地區、國家和當地法律與法規棄置。如需其他環境、健康狀態和安全資訊，請參閱安全資料表 (SDS)，網址為 [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html)。

12. 慢慢降低吸管把手, 確定吸管降低進入清洗瓶與廢棄物瓶。
13. 關閉試劑室門。
14. 選擇 **[Next]**( 下一步)。執行後清洗隨即開始。

在清洗完成之後, 將使用過的流通池、清洗托盤, 以及含有剩餘清洗溶液的清洗瓶留在儀器上。

**附註** 吸管留在下方位置是正常的。將未使用的清洗溶液留在清洗托盤與清洗瓶之內, 以避免吸管乾掉, 並防止空氣進入系統。

# 維護

## 維修頻率

按照下表顯示的間隔執行本章中描述的維護活動。

表1 在正常操作期間維修

活動	每月	依情況需要
維護清洗	X	
待機清洗		準備閒置 (≥ 7 天未使用)
儀器關機		X

表2 在閒置時維護 (≥ 7天未使用)

活動	每月	依情況需要
待機清洗	X	
儀器關機		X

## 預防性維護

Illumina 建議每日曆年進行一次預防性維護。如果您未簽署服務合約，請聯絡境內客戶經理或 Illumina 技術支援，安排計費的預防性維修服務。

## 執行維護清洗

每 30 天執行一次維護清洗，以確保最佳的性能。維護清洗大約需要 90 分鐘才能完成。清洗包括一連串的三个清洗步驟，使用實驗室等級水混合 Tween 20 的清洗溶液徹底沖洗系統。

您可以設定儀器在兩次執行之間進行維護清洗，而非執行後清洗。請參閱第 7 頁中的 [設定執行後清洗選項](#)。

### 使用者提供的耗材

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, 目錄 # P7949)
- 實驗室等級水



注意

載入清洗托盤後和開始清洗前，請務必關閉試劑冷卻槽門。此步驟可避免您的手在吸管降低時放在路徑上導致受傷。

## 程序

1. 確定使用過的流通池已載入儀器上。
2. 在 [Home] (首頁) 畫面中選擇 **[Perform Wash]** (執行清洗)。
3. 在 [Perform Wash] (執行清洗) 畫面上, 選擇 **[Maintenance Wash]** (維護清洗)。軟體自動升起試劑冷卻槽中的吸管。

**附註** 每個清洗步驟一定要使用新鮮的清洗溶液。重覆使用前一次清洗的清洗溶液, 會讓廢棄物再次進入流控管線。

## 執行首次清洗

1. 如下以 Tween 20 與實驗室等級的水製備新鮮的清洗溶液:
  - a. 將 5 毫升的 100% Tween 20 添加到 45 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 10% 的 Tween 20。
  - b. 將 25 毫升的 10% Tween 20 添加到 475 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 0.5% 的 Tween 20 清洗溶液。
  - c. 翻轉數次加以混合。
2. 以新鮮的 0.5% Tween 20 清洗溶液準備清洗零組件, 如下:
  - a. 將 6 毫升的清洗溶液添加到清洗托盤的每個貯池內。
  - b. 將 350 毫升清洗溶液添加到 500 毫升清洗瓶。
3. 將清洗托盤與清洗瓶載於儀器之上:
  - a. 打開試劑室門與試劑冷卻槽門, 從冷卻槽滑出用過的試劑匣或清洗托盤。
  - b. 將清洗托盤送入試劑冷卻槽, 直到停止為止。關閉試劑冷卻槽門。
  - c. 升起 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶與廢棄物瓶前方的吸管把手, 直到鎖定為止, 並以清洗瓶取代 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶。

**附註** 在每次執行之後棄置 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶。不要重覆使用任何剩餘的 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2)。

- d. 移除廢棄物瓶, 並妥善棄置內容物。將廢棄物瓶放回試劑室。
  - e. 慢慢降低吸管把手, 確定吸管降低進入清洗瓶與廢棄物瓶。
  - f. 關閉試劑室門。
4. 選擇 **[Next(下一步)]**。開始首次清洗。

## 執行第二次清洗

1. 以 Tween 20 與實驗室等級的水準備新鮮的清洗溶液, 如下:

- a. 將 5 毫升的 100% Tween 20 添加到 45 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 10% 的 Tween 20。
  - b. 將 25 毫升的 10% Tween 20 添加到 475 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 0.5% 的 Tween 20 清洗溶液。
  - c. 翻轉數次加以混合。
2. 在首次清洗完成時，移除清洗托盤與清洗瓶，並棄置剩餘的清洗溶液。
  3. 以新鮮的 0.5% Tween 20 清洗溶液重新裝填清洗零組件，如下：
    - a. 將 6 毫升的清洗溶液添加到清洗托盤的每個貯池內。
    - b. 將 350 毫升清洗溶液添加到 500 毫升清洗瓶。
  4. 載入清洗托盤與清洗瓶，如下：
    - a. 將清洗托盤送入試劑冷卻槽，直到停止為止。關閉試劑冷卻槽門。
    - b. 載入清洗瓶並慢慢降低吸管把手，確定吸管降低進入清洗瓶與廢棄物瓶。
    - c. 關閉試劑室門。
  5. 選擇 **[Next]**( 下一步)。開始第二次清洗。

## 執行最後清洗

1. 以 Tween 20 與實驗室等級的水準備新鮮的清洗溶液，如下：
  - a. 將 5 毫升的 100% Tween 20 添加到 45 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 10% 的 Tween 20。
  - b. 將 25 毫升的 10% Tween 20 添加到 475 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 0.5% 的 Tween 20 清洗溶液。
  - c. 翻轉數次加以混合。
2. 在第二次清洗完成時，移除清洗托盤與清洗瓶，並棄置剩餘的清洗溶液。
3. 以新鮮的 0.5% Tween 20 清洗溶液重新裝填清洗零組件，如下：
  - a. 將 6 毫升的清洗溶液添加到清洗托盤的每個貯池內。
  - b. 將 350 毫升清洗溶液添加到 500 毫升清洗瓶。
4. 載入清洗托盤與清洗瓶，如下：
  - a. 將清洗托盤送入試劑冷卻槽，直到停止為止。關閉試劑冷卻槽門。
  - b. 載入清洗瓶並慢慢降低吸管把手，確定吸管降低進入清洗瓶與廢棄物瓶。
  - c. 關閉試劑室門。
5. 選擇 **[Next]**( 下一步)。開始最後清洗。

## 清洗後

在清洗完成之後，將使用過的流通池、清洗托盤，以及含有剩餘清洗溶液的清洗瓶留在儀器上。

**附註** 吸管留在下方位置是正常的。將未使用的清洗溶液留在清洗托盤與清洗瓶之內，以避免吸管乾掉，並防止空氣進入系統。

## 執行待機清洗

如果不計劃在接下來的 7 天內使用儀器，則進行一次待機清洗，準備好讓儀器閒置。待機清洗會為流控管線做好準備以便閒置，並且需連續執行兩次清洗，以沖洗每個有任何殘餘試劑或鹽分累積的位置。每次清洗需時大約 60 分鐘。需等候大約兩小時以完成待機清洗。

在完成待機清洗時，儀器處於待機模式，[Home] (首頁) 畫面上出現顯示儀器狀態的訊息。在儀器處於待機模式時，啟用定序執行之前，必須進行維修清洗。

**附註** Illumina 建議每 30 天重複一次待機清洗使儀器得以維持閒置。

### 使用者提供的耗材

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, 目錄 # P7949)
- 實驗室等級的水或去離子水(如需實驗室等級的水的使用準則，請參閱「*MiSeqDx 現場準備指南*」(文件編號 15070066))

### 程序

1. 確定使用過的流通池已載入儀器上。
2. 在 [Home] (首頁) 畫面中選擇 **[Perform Wash]** (執行清洗)。
3. 在 [Wash Options] (清洗選項) 畫面上，選擇 **[Standby Wash]** (待機清洗)。軟體自動升起試劑冷卻槽中的吸管。

**附註** 每個清洗步驟一定要使用新鮮的清洗溶液。重覆使用前一次清洗的清洗溶液，會讓廢棄物再次進入流控管線。

### 執行首次清洗

1. 如下以 Tween 20 與實驗室等級的水製備新鮮的清洗溶液：
  - a. 將 5 毫升的 100% Tween 20 添加到 45 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 10% 的 Tween 20。
  - b. 將 25 毫升的 10% Tween 20 添加到 475 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 0.5% 的 Tween 20 清洗溶液。
  - c. 翻轉數次加以混合。
2. 以新鮮的 0.5% Tween 20 清洗溶液準備清洗零組件，如下：
  - a. 將 6 毫升的清洗溶液添加到清洗托盤的每個貯池內。

- b. 將 350 毫升清洗溶液添加到 500 毫升清洗瓶。
3. 將清洗托盤與清洗瓶載於儀器之上：
  - a. 打開試劑室門與試劑冷卻槽門，從冷卻槽滑出用過的試劑匣或清洗托盤。
  - b. 將清洗托盤送入試劑冷卻槽，直到停止為止。關閉試劑冷卻槽門。
  - c. 升起 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶與廢棄物瓶前方的吸管把手，直到鎖定為止，並以清洗瓶取代 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶。

**附註** 在每次執行之後棄置 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶。不要重覆使用任何剩餘的 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2)。

- d. 移除廢棄物瓶，並妥善棄置內容物。將廢棄物瓶放回試劑室。
- e. 慢慢降低吸管把手，確定吸管降低進入清洗瓶與廢棄物瓶。
- f. 關閉試劑室門。
4. 選擇 **[Next(下一步)]**。開始首次清洗。

## 執行第二次清洗

1. 以 Tween 20 與實驗室等級的水準備新鮮的清洗溶液，如下：
  - a. 將 5 毫升的 100% Tween 20 添加到 45 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 10% 的 Tween 20。
  - b. 將 25 毫升的 10% Tween 20 添加到 475 毫升的實驗室等級的水。如此可配製成 0.5% 的 Tween 20 清洗溶液。
  - c. 翻轉數次加以混合。
2. 在首次清洗完成時，移除清洗托盤與清洗瓶，並棄置剩餘的清洗溶液。
3. 以新鮮的 0.5% Tween 20 清洗溶液重新裝填清洗零組件，如下：
  - a. 將 6 毫升的清洗溶液添加到清洗托盤的每個貯池內。
  - b. 將 350 毫升清洗溶液添加到 500 毫升清洗瓶。
4. 載入清洗托盤與清洗瓶，如下：
  - a. 將清洗托盤送入試劑冷卻槽，直到停止為止。關閉試劑冷卻槽門。
  - b. 載入清洗瓶並慢慢降低吸管把手，確定吸管降低進入清洗瓶與廢棄物瓶。
  - c. 關閉試劑室門。
5. 選擇 **[Next](下一步)**。開始第二次清洗。

## 清洗後

在清洗完成之後，將使用過的流通池、清洗托盤，以及含有剩餘清洗溶液的清洗瓶留在儀器上。

**附註** 吸管留在下方位置是正常的。將未使用的清洗溶液留在清洗托盤與清洗瓶之內，以避免吸管乾掉，並防止空氣進入系統。

## 儀器關機

儀器最好一直維持開機狀態。如必須關閉儀器，請用下列程序關閉 Windows 並準備流控管線。

1. 執行維修清洗。如需更多資訊，請參閱第 27 頁中的程序。
2. 移除廢棄物瓶，並妥善棄置內容物。將廢棄物瓶放回試劑室。
3. 關閉試劑室門。
4. 從 [Main Menu] (主功能表)，選擇 **[Shut Down Instrument]** (將儀器關機)。  
此指令會關閉儀器軟體。
5. 將電源開關切換至 [OFF] (關) 位置。

**附註** 如果儀器已關機，請等待至少 60 秒，再將電源開關轉回到 ON(開) 的位置。

# 疑難排解

## 簡介

本小節說明聯絡 Illumina 技術支援之前應採取的常見疑難排解步驟。針對多數錯誤，螢幕上會出現指示如何修正錯誤的訊息。

如有技術問題，請前往 Illumina 網站的 MiSeqDx 系統支援頁面。該支援頁面提供存取文件的路徑、下載以及常見問題。如需取得支援公告，請登入您的 MyIllumina 帳戶。

如有執行品質或效能上的問題，請聯絡 Illumina 技術支援。如需更多資訊，請參閱第 42 頁中的 [技術協助](#)。

Illumina 技術支援代表一般會要求特定執行檔案的複本，以進行疑難排解。您可以使用 [Manage Files] (管理檔案) 畫面中的 [Bundle Logs] (彙整記錄) 功能，彙集並壓縮疑難排解所需的檔案。

## 彙整記錄進行疑難排解

[Bundle Logs] (彙整記錄) 這項功能會彙整檔案並傳送至 Illumina 技術支援，以協助進行疑難排解。從 [Manage Files] (管理檔案) 畫面的 [Bundle Logs] (彙整記錄) 標籤中，選擇多個檔案，組成一個彙整檔案。彙整將自動壓縮。

[Bundle Logs] (彙整記錄) 功能一次可以將單次執行的多個檔案彙整為一個彙整類型。針對每次執行和 Illumina 技術支援部門要求的彙整類型重複進行 [Bundle Logs] (彙整記錄) 程序。

1. 從 [Manage Files] (管理檔案) 畫面選擇 **[Bundle Logs]** (彙整記錄) 標籤。
2. 選擇 **[Browse]** (瀏覽)，前往 MiSeqOutput 資料夾的所在位置。
3. 選擇執行旁邊的方塊。
4. 選擇 **[Bundle Logs]** (彙整記錄)。

[Bundle Files] (彙整檔案) 畫面會隨即開啟並顯示彙整檔案的相關資訊，包括彙整中所包含的個別檔案清單。

如欲瞭解彙整記錄功能中個別資料夾與檔案的更多資訊，請參閱「[MiSeq 輸出與分析資料夾快速參考卡](#)」(文件編號 15034791)。

5. 選擇 **[Next]** (下一步)。
6. 瀏覽至您想要儲存壓縮彙整檔案的位置。
7. 選擇 **[Save]** (儲存)。

檔案完成彙整之後，[Bundle Logs] (彙整記錄) 標籤會重新開啟。

8. 將壓縮的彙整檔案傳送至 Illumina 技術支援部門。

## 執行系統檢查

您可在聯絡 Illumina 技術支援之前先執行某些系統檢查，例如 [Volume Test] (容積檢測)。容積檢測透過估算氣泡在通過感應器時的流通容積，以檢查流控系統的狀況。如需更多資訊，請參閱第 37 頁中的[執行容積檢測](#)。



注意

[Tip/Tilt] (尖端/傾斜) 與 [Full Optics] (完整光學) 測試需使用特別的流通池，並且只能由 Illumina 技師進行。

1. 從 [Main Menu] (主功能表) 選擇 **[System Check]** (系統檢查)。
2. 執行下列其中之一：
  - 選擇您要執行的個別測試。
  - 選擇 **[Select All]** (全選) 執行所有檢測。
3. 選擇 **[Next]** (下一步)。  
完成後，測試結果將顯示在畫面上。
4. [選用] 選擇 **Show Details** (顯示詳細資料) 以便在軟體介面上檢視結果摘要。
5. [選用] 選擇 **Export Results** (匯出結果) 以 \*.csv 檔案格式將結果匯出到 USB 隨身碟。
6. 選擇 **[Done]** (完成)。

## 暫停或停止執行

MiSeqDx 的設計可在沒有使用者介入下從頭到尾完成執行。然而，還是可以從 [Sequencing] (定序) 畫面暫停或停止執行。

### 暫停執行

在完成之前，您可以暫停執行。例如，假如您認為廢棄物瓶已滿，便能暫停執行。暫停的執行可再恢復。當您選擇 **[Pause]** (暫停) 時，系統會先完成目前的指令，接著暫停執行，然後安全放置流通池。



注意

在叢集產生期間或在定序的前五個週期之間，請勿暫停執行。在這段期間暫停的執行無法恢復。

如要從 [Sequencing] (定序) 畫面暫停執行，選擇 **[Pause]** (暫停)。按鈕變更為 **[Resume]** (復原)。在準備恢復執行時，選擇 **[Resume]** (復原)。

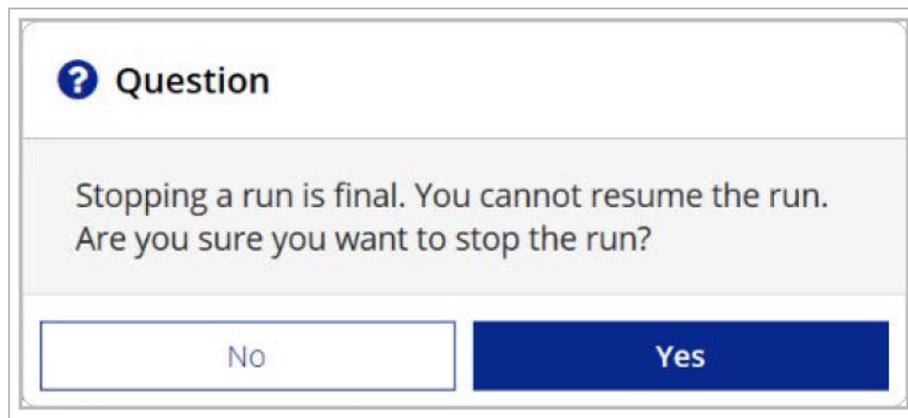
### 停止執行

在執行完成之前，您可以使用 [Sequencing] (定序) 畫面上的 **[Stop]** (停止) 按鈕停止定序的執行。如果執行設定不正確、資料品質不佳或是遭遇硬體錯誤，您也可以停止執行。

在停止執行時，目前的指令並未完成，流通池台架移到往前的位置。主要分析將繼續進行最後一個完整的循環。

若要從 [Sequencing] (定序) 畫面停止執行，選擇 **[Stop]** (停止)。在停止執行時，目前的指令並未完成，流通池台架移到往前的位置。主要分析將繼續進行最後一個完整的循環。

圖16 停止執行



停止執行是最終結果。停止的執行無法復原。唯一的選項是進行儀器清洗。

## 手動升高試劑匣吸管

如果執行被意外中斷，或者在執行過程中發生錯誤，則試劑匣吸管可能不會自動升高。要移除試劑匣，請手動升高試劑匣吸管。

1. 在 [Home] (首頁) 畫面中選擇 **[Perform Wash]** (執行清洗)。
2. 選擇 **[Raise Sippers]** (升高吸管)。
3. 移除試劑匣。

## 解決執行設定錯誤

如果執行前檢查的任何檢查失敗，該項目旁邊會出現一個紅色的圖示 **X**。螢幕上出現說明錯誤與如何修正的訊息。

錯誤	行動
<b>X 測量的流率</b>	<p>流率檢查畫面開啟。使用下拉清單或螢幕上的鍵盤輸入以下資訊：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 溶液：<b>PR2</b></li> <li>• 容積：<b>250</b></li> <li>• 吸液速率：<b>2500</b></li> <li>• 分注速率：<b>2500</b></li> </ul> <p>選擇 <b>[Pump]</b> (泵浦)。如果誤差持續存在，請將容積設定為抽吸 500 µl 的 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2)，並再次重複流程。在抽吸液體時，選擇 <b>[Restart Check]</b> (重新啟動檢查)。</p> <p>在執行前檢查成功之後，<b>[Start Run]</b> (開始執行) 按鈕會啟用。</p> <p>如果流量檢查再度失敗，重新定位流通池，以確定流量不會因為偏差而中斷。檢查流通池墊片是否有棉絮或出現不規則狀況。</p>
<b>X 可用的磁碟空間</b>	<p>如果磁碟空間太少，會出現指示需要多少磁碟空間的訊息。使用 <b>[Manage Files]</b> (管理檔案) 功能從儀器電腦清除所需的空間。</p>
<b>X 網路連線啟用</b>	<p>確定網路線插入儀器。</p> <p>如果沒有恢復網路連線，選擇 <b>[Manage Instrument]</b> (管理儀器) 畫面上的 <b>[Reboot]</b> (重新開機)，以進行軟體的重新開機。</p> <p>如果還是沒有恢復網路連線，選擇 <b>[Manage Instrument]</b> (管理儀器) 畫面上的 <b>[Shut Down]</b> (關機)，然後使用電源開關關閉儀器。等待至少 60 秒之後，再打開儀器電源與啟用軟體。</p>
<b>X 主要分析就緒</b>	<p>從前一次執行的主要分析不完整。允許主要分析完成的預設時間是一小時，螢幕上出現倒數計時。選項是等待一小時或選擇 <b>[Terminate Analysis]</b> (終止分析)。次要分析因為任何未完成的循環而停止。</p>

## 解決 RFID 讀取失敗

RFID 失敗會在以下情況觸發：

- 載入的零組件不屬於體外診斷套組。
- 載入的零組件不屬於 Local Run Manager 模組所識別的組件。
- 零組件上的 RFID 標籤讀取發生技術故障。

下列步驟可用於解決技術故障造成的 RFID 失敗。

**附註** 診斷執行可允許一個 RFID 讀取失敗。如果無法讀取兩個耗材的 RFID，軟體無法繼續進行下一個執行設定步驟。如發生此錯誤，請聯絡 Illumina 技術支援部門。

### 流通池

1. 在進行之前，請務必重試 RFID 讀取。若要這樣做，請開啟然後關閉流通池室門。
2. 如果 RFID 第二次也失敗，請選擇 **[Get Code]** (取得編碼)。請聯絡 Illumina 技術支援部門來取得臨時 RFID 略過編碼。臨時的略過編碼將於七天後過期。
3. 使用螢幕上的鍵盤輸入臨時的略過編碼。

4. 選擇 **[Next]**( 下一步)。
5. 輸入以下資訊：
  - 流通池的條碼編號, 位於條碼正下方的流通池容器標籤上
  - 流通池零件編號
6. 選擇 **[Next]** ( 下一步) 進入 **[Load Flow Cell]** ( 載入流通池) 畫面。
7. 選擇 **[Next]** ( 下一步) 進入下一個執行設定步驟。

#### **MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶**

1. 在進行之前, 請務必重試 RFID 讀取。若要這樣做, 請升起然後降低試劑吸管把手。
2. 如果 RFID 第二次也失敗, 請選擇 **[Get Code]** ( 取得編碼)。  
請聯絡 Illumina 技術支援部門來取得臨時 RFID 略過編碼。臨時的略過編碼將於七天後過期。
3. 使用螢幕上的鍵盤輸入臨時的略過編碼。
4. 選擇 **[Next]**( 下一步)。
5. 輸入以下資訊：
  - MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶的條碼編號, 位於條碼正下方的 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶標籤上
  - MiSeqDx SBS 溶液 (PR2) 瓶零件編號
6. 選擇 **[Next]** ( 下一步) 進入 **[Load Reagents]** ( 載入試劑) 畫面。
7. 選擇 **[Next]** ( 下一步) 進入下一個執行設定步驟。

#### **試劑匣**

1. 在進行之前, 請務必重試 RFID 讀取。若要這樣做, 請開啟然後關閉試劑冷卻槽門。
2. 如果 RFID 第二次也失敗, 請選擇 **[Get Code]** ( 取得編碼)。  
請聯絡 Illumina 技術支援部門來取得臨時 RFID 略過編碼。臨時的略過編碼將於七天後過期。
3. 使用螢幕上的鍵盤輸入臨時的略過編碼。
4. 選擇 **[Next]**( 下一步)。
5. 輸入以下資訊：
  - 試劑組條碼編號, 位於條碼正下方的組件標籤上
  - 試劑組零件編號
6. 選擇 **[Next]** ( 下一步) 返回 **[Load Reagents]** ( 載入試劑) 畫面。
7. 選擇 **[Next]** ( 下一步) 進入下一個執行設定步驟。

## **避免在執行期間重新開機**

如果 MiSeqDx 在執行期間重新啟動, 可能表示網路的 Windows Update 軟體已配置為自動安裝軟體更新。此設定應已於安裝期間關閉。聯絡本地的 IT 部門尋求協助, 以停用在 MiSeqDx 背景中, 由 Windows 作業系統所執行的自動更新。

## 疑難排解流率誤差問題

流率是液體通過流體系統的速度 (微升/分鐘)。此數值會在每次執行前檢查時進行測量。如果系統無法測量流率誤差,請使用泵浦將定量試劑 (MiSeqDx SBS 溶液 (PR2)) 注入系統,再重新檢使用泵浦。

1. 使用下拉清單或螢幕上的鍵盤輸入以下資訊:
  - 溶液: **PR2**
  - 容積: **250** 微升
  - 吸液率: **2500** 微升/分鐘
  - 擴散率: **2500** 微升/分鐘
2. 選擇 **[Pump]** (泵浦)。
3. 泵浦步驟完成後,請選擇 **[Restart Check]** (重新啟動檢查)。
4. 如果誤差持續存在,請將容積設定為抽吸 500  $\mu$ l 的 MiSeqDx SBS 溶液 (PR2),並再次重複流程。如果第二次嘗試仍然無法解決誤差,請聯絡 Illumina 技術支援部門。

## 執行容積檢測

流控管線阻塞會造成試劑傳送不良,因而影響定序結果。假如懷疑流控管線阻塞,請執行容積檢測。

容積檢測透過估算兩個氣泡在通過感應器時之間的容積,以檢查流控系統的健康狀態。如要執行容積檢測,清洗托盤與清洗瓶必須裝入實驗室等級的水,且用過的流通池必須就定位。依照螢幕上的指示執行檢測。

1. 確定使用過的流通池已載入儀器上。
2. 從 **[Main Menu]** (主功能表) 選擇 **[System Check]** (系統檢查)。
3. 選擇 **[Conduct Volume Test]** (進行容積檢測),接著選擇 **[Next]** (下一步)。
4. 以 6 毫升的實驗室等級的水注入清洗托盤的每個貯池。
5. 以 350 毫升的實驗室等級的水注入 500 毫升的清洗瓶。
6. 將清洗托盤與清洗瓶載入儀器上。
  - a. 打開試劑室門與試劑冷卻槽門,將清洗托盤送入試劑冷卻槽,直到停止為止。關閉試劑冷卻槽門。
  - b. 升起吸管把手直到鎖定為止,並載入清洗瓶。
  - c. 移除廢棄物瓶,並妥善棄置內容物。將廢棄物瓶放回試劑室。
  - d. 慢慢降低吸管把手,確定吸管降低進入清洗瓶與廢棄物瓶。
7. 依照螢幕上的指示,移除清洗瓶吸管的任何液滴,如下:
  - a. 當系統提示時,慢慢升起吸管把手並檢查清洗瓶吸管是否有出現大水滴。
  - b. 當系統提示時,慢慢降低吸管把手使其沒入水中,讓表面張力移除液滴。
  - c. 當系統提示時,慢慢升起吸管把手並檢查清洗瓶吸管是否有出現大水滴。
  - d. 當系統提示時,慢慢完全降低吸管把手,確定吸管降低進入清洗瓶與廢棄物瓶。

8. 選擇 **[Next]**(下一步)。容積檢測隨即開始。

在容積檢測完成時，螢幕上會出現結果。

如果檢測未通過，請執行維護清洗。請參閱第 27 頁中的程序。

9. 在完成維護清洗時，重複容積檢測。

## 解決試劑冷卻槽溫度錯誤

試劑冷卻槽所需的溫度範圍為 2°C 至 11°C。感應器指示燈會顯示試劑冷卻槽的溫度。請參閱第 4 頁中的感應器指示燈。

如果出現顯示冷卻槽不在指定溫度範圍內的錯誤訊息，請聯絡 Illumina 技術支援部門。

如果冷卻槽溫度超出範圍，可以防止啟動定序執行。如果您在定序執行期間收到錯誤訊息，請等候執行完成。

如需關於試劑冷卻槽的詳細資訊，請參閱第 3 頁中的試劑室。

## 解決 Local Run Manager 分析錯誤

如需與分析錯誤相關的疑難排解資訊，請聯絡 Illumina 技術支援部門。適用於 *MiSeqDx 的 Local Run Manager v4 軟體指南* (文件編號 200046657) 包含如何將分析重新排入佇列的說明。

## 配置系統設定

MOS 包含可以存取設定系統指令的標籤。

- IP 和 DNS 設定會在 IP 標籤上進行。必須擁有 Windows 管理員層級存取權才能使用此功能。
- 網路和啟動設定會在下列標籤上進行：
  - [Network Credentials] (網路認證)—必須擁有 Windows 管理員層級存取權才能使用此功能。
  - [Start-Up Options] (啟動選項)—必須擁有 Local Run Manager 管理員層級存取權才能使用此功能。

通常，這些系統設定會在安裝 MiSeqDx 期間進行。

## 設定 IP 與 DNS 設定

假如因網路或設備變更而有所需要，請設定 IP 位址與 DNS 伺服器位址。必須具有 Windows 管理員層級存取權才能設定此功能。

1. 從 [Main Menu] (主功能表) 選擇 **[System Settings]** (系統設定)。
2. 選擇 IP 標籤，然後從以下選項中選擇，以設定 IP 位址：
  - **[Obtain an IP address automatically]** (自動取得 IP 位址)—選擇此選項以使用動態主機設定通訊協定 (DHCP) 伺服器取得 IP 位址。

**附註** 動態主機組態協定 (DHCP) 為標準的網路通訊協定，用於 IP 網路上的動態分配網路組態參數。

- **[Use the following IP address]** (使用下列 IP 位址)—選擇此選項，如下手動連線儀器到另一組伺服器。聯絡網路管理員，以取得所在位置的特定 IP 位址。
    - 輸入 IP 位址。IP 位址為透過點來分隔的四組數字序列，例如和 168.62.20.37 相近的形式。
    - 輸入細分 IP 網路的子網路遮罩。
    - 輸入連線網際網路的網路上路由器之預設閘道。
3. 從以下選項中選擇，以設定 DNS 位址：
    - **[Obtain a DNS address automatically]** (自動取得 DNS 位址)—讀取與 IP 位址相關聯的 DNS 位址。
    - **[Use the following DNS addresses]** (使用下列 DNS 位址)—將儀器連線至轉譯網域名稱為 IP 位址的伺服器。
      - 輸入想要的 DNS 位址。DNS 位址為用來轉譯網域名稱為 IP 位址的伺服器名稱。
      - 輸入替代的 DNS 位址。如果想要的 DNS 無法轉譯特定的網域名稱為 IP 位址，則會使用替代用的 DNS 位址。
  4. 選擇 **[Save]** (儲存)。

## 配置網路和啟動設定

在 Network Credentials(網路認證) 標籤 (必須擁有 Windows 管理員層級存取權才能使用此功能) 和 Start-Up Options(啟動選項) 標籤 (必須擁有 Local Run Manager 管理員層級存取權) 上配置網路和啟動設定。

1. 從 [Main Menu] (主功能表) 選擇 **[System Settings]** (系統設定)。
2. 選擇 [Network Credentials] (網路認證) 標籤, 然後按照以下方式配置網路設定。
3. 在製造時儀器電腦已經指派其機器名稱。通常不需要變更機器名稱。任何對本畫面上機器名稱的變更都會影響其連線能力, 同時需要使用網路管理員的使用者名稱和密碼進行。  
機器名稱在 Local Run Manager 軟體輸出中會記錄為儀器名稱。
4. 按照以下方式將儀器電腦連線至網域或工作群組。
  - **針對連線到網際網路的儀器**—選擇 **[Domain]** (網域), 然後在您的設備上輸入與網際網路連線關聯的網域名稱。
  - **針對未連線到網際網路的儀器**—選擇 **[Workgroup]** (工作群組), 然後輸入工作群組名稱。
5. 選擇 [Start-Up Options] (啟動選項) 標籤, 然後從以下選項中選擇:
  - **Kiosk 模式** (建議)—全螢幕顯示控制軟體介面。此軟體是專為在 kiosk 模式中使用所設計。
  - **Windows 模式**—允許在儀器電腦上存取 Windows。與軟體介面的互動 (如按鈕位置), 在此模式中可能有所不同。
6. 選擇 **[Save]** (儲存)。

# 輸出資料夾

## 執行資料夾

MiSeqDx 上的每次執行都會產生三個執行資料夾，每個皆有特定用途：

- **D:\Illumina\MiSeqTemp**—開始執行時，會將臨時執行資料夾寫入儀器電腦的本機磁碟，並將其做為 MOS 與 RTA 的工作區域。不需要存取 Temp 資料夾。此資料夾的內容會在七天後刪除。
- **D:\Illumina\MiSeqOutput**—RTA 會將 Temp 資料夾的檔案複製到 Output 資料夾。在產生主要分析檔案時，RTA 將檔案複製回到 Temp 資料夾並擴展 Analysis 資料夾。焦點影像與縮圖影像並不會複製到 Analysis 資料夾。
- **D:\Illumina\MiSeqAnalysis**—主要分析完成後，Local Run Manager 會存取儀器本機磁碟上的 Analysis 資料夾，開始次要分析。寫入 Analysis 資料夾的所有檔案都複製到 Output 資料夾。

## 根資料夾命名

根執行資料夾名稱會識別執行的日期、儀器號碼與執行所使用的流通池。在任何一個執行中，每個執行資料夾都具有相同的根資料夾名稱。

根據預設，資料夾名稱使用以下格式：

YYMMDD\_<儀器號碼>\_<執行號碼>\_A<流通池條碼>

每次在特定儀器上執行一次，執行號碼隨之遞增。

## 技術協助

如需技術協助，請聯絡 Illumina 技術支援。

網站：[www.illumina.com](http://www.illumina.com)

電子郵件：[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

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

產品文件 — 可從 [support.illumina.com](http://support.illumina.com) 下載。



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



**澳洲贊助商**

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

供體外診斷使用。

© 2023 Illumina, Inc. 保留一切權利。

**illumina**<sup>®</sup>