



**İÜ**  
**ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ**  
**ILLUMINA MISEQ CİHAZI KULLANMA TALİMATI**

Doküman No:OE-GEN-PR-001/TL-036  
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017  
Revizyon No :00  
Revizyon Tarihi :  
Sayfa No : 1 / 4

**1. AMAÇ**

Bu talimat, yeni nesil dizi analizi işlemi için kullanılan Illumina Miseq cihazının doğru bir şekilde kullanılması amacı ile hazırlanmıştır.

**2. KAPSAM**

Bu talimat, Illumina Miseq cihazına ait tüm işlemleri kapsar.

**3. SORUMLULAR**

Kanser Genetiği laboratuvarı çalışanları

**4. UYGULAMALAR**

**4.1. Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar**

**4.1.1.** Miseq sistemi titreşimlere çok hassastır. Koşum başladıktan sonra cihazın herhangi bir şekilde hareket ettirilmesi analizi olumsuz yönde etkileyebilir.

**4.1.2.** Koşum başlatıldıktan sonra flow cell kapağı veya diğer reaktif kapakları kesinlikle açılmamalıdır. Ayrıca cihaz ekranına, koşumu duraklatma haricinde kesinlikle dokunulmamalıdır.

**4.1.3.** Koşum başlatılmadan önce cihaz üzerinde açık olan bütün dosyalar kapatılmalı ve işlem sırasında hiç bir dosya açılmamalıdır.

**4.1.4.** Cihazın sürekli açık kalması önerilir. Fakat kapatmak durumunda kalınırsa öncelikle Maintenance yıkama yapılmalıdır. Sonrasında atık kutusu boşaltılmalı ve boş şekilde yerine tekrar koyulmalıdır. Ekrandan cihazı kapat seçeneği seçilerek yazılım kapatılır. Daha sonra cihaz kapatma düğmesinden kapatılır. Cihaz yeniden açılmadan önce mutlaka 60 sn. beklenmelidir.

**4.2. Cihazın Çalıştırılması**

**4.2.1.** MiSeq cihazı, flow cell kompartımanı, kapalı optik modülü, durum çubuğu, dokunmatik ekran, harici USB girişleri ve reaktif bölmesi olmak üzere 6 adet bölmeden oluşmaktadır.

**4.2.2.** Cihazın arkasında bulunan açma kapama düğmesinden cihaz açılır.

**4.2.3.** Kullanıcı adı ve parola girişi yapılır.

**4.2.4.** MiSeq kontrol yazılımı otomatik olarak açılır. Bu yazılım cihazın tüm işleyişini kontrol eder. Flow cell' in yüklenmesi, reaktiflerin koyulması, kalite istatistikleri, cihaz parçalarının sıcaklıkları, cihazda yapılacak yıkama işlemleri, cihaz ayarları bu yazılımdan kontrol edilir.

**4.2.5.** Yeni koşum başlatılmadan önce yazılım üzerinden sekans seçeneği seçilir.

**4.2.6.** “Yeni nesil dizileme işlem talimatı” na uygun olacak şekilde Miseq kartuşa yükleme yapılır ve flow cell hazırlanır.

**4.2.7.** Flow cell yuvasına yerleştirilir ve yazılım üzerinden Next seçeneği seçilir.

**4.2.8.** Reaktifler (PR2), atık şişesi ve kartuş yüklenir, yazılım üzerinden Next seçeneği seçilir.

**HAZIRLAYAN:**

**GÖZDEN GEÇİREN/KONTROL EDEN:**

**ONAYLAYAN:**

SÜREÇ SORUMLUSU

KALİTE TEMSİLCİSİ

BAŞHEKİM



**İÜ**  
**ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ**  
**ILLUMINA MISEQ CİHAZI KULLANMA TALİMATI**

Doküman No:OE-GEN-PR-001/TL-036  
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017  
Revizyon No :00  
Revizyon Tarihi :  
Sayfa No : 2 / 4

**4.2.9.** Cihaza örnekler “Miseq yükleme formu” kullanılarak tanıtılır ve çalışma başlatılır.

**4.3. Koşum Aşamalarının Takibi**

**4.3.1.** Koşum aşamaları cihaz monitöründen takip edilebilir.

**4.3.2.** Burada çalışmanın ilerlemesi, kaç siklusun tamamlandığı, flow cell’ in kullanma yoğunluğu, Q skor denilen kalite skoru, cluster yoğunluğu, elde edilen tahmini verim takip edilebilir. Bu değerler 25 siklus sonunda ortaya çıkar.

**4.3.3.** İşlem bittikten sonra Post-run yıkama yapılır.

**4.4. Yıkama İşlemleri**

**4.4.1. Maintenance Yıkama**

**4.4.1.1.** Her 30 günde bir maintenance yıkama yapılmalıdır. Yıkama yaklaşık olarak 90 dk. sürer.

**4.4.1.2.** Kullanılmış flow cell cihaz üzerinde olmalıdır.

**4.4.1.3.** Açılış ekranından Perform Wash seçeneği tıklanır.

**4.4.1.4.** Açılan ikinci ekrandan Maintenance Wash seçeneği tıklanır.

**4.4.1.5.** 45 ml moleküler biyoloji derece suya 5 ml %100 Tween 20 solüsyonu eklenir. Bu şekilde %10 Tween 20 solüsyonu elde edilmiş olur.

**4.4.1.6.** Daha sonra %10’ luk Tween 20 solüsyonundan 25 ml alınarak 475 ml moleküler biyoloji derece suya eklenir. Bu şekilde %0.5’ lik Tween 20 solüsyonu elde edilmiş olur.

**4.4.1.7.** 5 kez ters çevirilerek karıştırılması sağlanır.

**4.4.1.8.** Yıkama tablasının kuyucuklarına 6’ şar ml %0.5’ lik, yıkama şişesine de 350 ml Tween 20 solüsyonu koyulur.

**4.4.1.9.** PR2 şişesi ve atık şişesi cihazdan çıkarılır. (PR2 şişesinde kalan solüsyon her işlemten sonra atılmalıdır. Kalan miktar kullanılmamalıdır.) Sonrasında yıkama tablası ve yıkama şişesi cihaza yerleştirilir. Atık şişesi de boşaltılarak tekrar cihaza yerleştirilir.

**4.4.1.10.** Next seçeneği tıklanır ve yıkama başlatılır.

**4.4.1.11.** Bu işlem 3 kez tekrarlanır.

**4.4.1.12.** Yıkama bittiğinde kullanılmış flow cell, yıkama tablası ve yıkama şişesi cihaz üzerinde bırakılmalıdır.

**4.4.2. StandBy Yıkama**

**4.4.2.1.** Eğer cihaz 7 gün süreyle kullanılmayacaksa cihazı boş konumuna almak için Standby yıkama yapılmalıdır. Cihaz bu sürede sekanslama için kullanılacaksa, sekans öncesinde mutlaka Maintenance yıkama yapılmalıdır. Bu yıkama yaklaşık olarak 2 saat sürer.

**4.4.2.2.** Kullanılmış flow cell cihaz üzerinde olmalıdır.

HAZIRLAYAN:	GÖZDEN GEÇİREN/KONTROL EDEN:	ONAYLAYAN:
SÜREÇ SORUMLUSU	KALİTE TEMSİLCİSİ	BAŞHEKİM



**İÜ**  
**ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ**  
**ILLUMINA MISEQ CİHAZI KULLANMA TALİMATI**

Doküman No:OE-GEN-PR-001/TL-036  
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017  
Revizyon No :00  
Revizyon Tarihi :  
Sayfa No : 3 / 4

- 4.4.2.3.** Açılış ekranından Perform Wash seçeneği tıklanır.
- 4.4.2.4.** Açılan ikinci ekrandan Standby Wash seçeneği tıklanır.
- 4.4.2.5.** 45 ml moleküler biyoloji derece suya 5 ml %100 Tween 20 solüsyonu eklenir. Bu şekilde %10 Tween 20 solüsyonu elde edilmiş olur.
- 4.4.2.6.** Daha sonra %10' luk Tween 20 solüsyonundan 25 ml alınarak 475 ml moleküler biyoloji derece suya eklenir. Bu şekilde %0.5' lik Tween 20 solüsyonu elde edilmiş olur.
- 4.4.2.7.** 5 kez ters çevirilerek karıştırılması sağlanır.
- 4.4.2.8.** Yıkama tablasının kuyucuklarına 6' şar ml %0.5' lik, yıkama şişesine de 350 ml Tween 20 solüsyonu koyulur.
- 4.4.2.9.** PR2 şişesi ve atık şişesi cihazdan çıkarılır. (PR2 şişesinde kalan solüsyon her işlemten sonra atılmalıdır. Kalan miktar kullanılmamalıdır.) Sonrasında yıkama tablası ve yıkama şişesi cihaza yerleştirilir. Atık şişesi de boşaltılarak tekrar cihaza yerleştirilir.
- 4.4.2.10.** Next seçeneği tıklanır ve yıkama başlatılır.
- 4.4.2.11.** Bu işlem 2 kez tekrarlanır.
- 4.4.2.12.** Yıkama bittiğinde kullanılmış flow cell, yıkama tablası ve yıkama şişesi cihaz üzerinde bırakılmamalıdır.
- 4.4.3. Post-Run Yıkama**
- 4.4.3.1.** Her sekanslama işlemi sonrasında bu işlem yapılmalıdır. Bu yıkama yaklaşık olarak 30 dakika sürer.
- 4.4.3.2.** Kullanılmış flow cell cihaz üzerinde olmalıdır.
- 4.4.3.3.** Açılış ekranından Perform Wash seçeneği tıklanır.
- 4.4.3.4.** Açılan ikinci ekrandan Post-run Wash seçeneği tıklanır.
- 4.4.3.5.** 45 ml moleküler biyoloji derece suya 5 ml %100 Tween 20 solüsyonu eklenir. Bu şekilde %10 Tween 20 solüsyonu elde edilmiş olur.
- 4.4.3.6.** Daha sonra %10' luk Tween 20 solüsyonundan 25 ml alınarak 475 ml moleküler biyoloji derece suya eklenir. Bu şekilde %0.5' lik Tween 20 solüsyonu elde edilmiş olur.
- 4.4.3.7.** 5 kez ters çevirilerek karıştırılması sağlanır.
- 4.4.3.8.** Yıkama tablasının kuyucuklarına 6' şar ml %0.5' lik, yıkama şişesine de 350 ml Tween 20 solüsyonu koyulur.
- 4.4.3.9.** PR2 şişesi ve atık şişesi cihazdan çıkarılır. (PR2 şişesinde kalan solüsyon her işlemten sonra atılmalıdır. Kalan miktar kullanılmamalıdır.) Sonrasında yıkama tablası ve yıkama şişesi cihaza yerleştirilir. Atık şişesi de boşaltılarak tekrar cihaza yerleştirilir.

HAZIRLAYAN:	GÖZDEN GEÇİREN/KONTROL EDEN:	ONAYLAYAN:
SÜREÇ SORUMLUSU	KALİTE TEMSİLCİSİ	BAŞHEKİM



**İÜ**  
**ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ**  
**ILLUMINA MISEQ CİHAZI KULLANMA TALİMATI**

Doküman No:OE-GEN-PR-001/TL-036  
İlk Yayın Tarihi :06.10.2017  
Revizyon No :00  
Revizyon Tarihi :  
Sayfa No : 4 / 4

**4.4.3.10.** Next seçeneği tıklanır ve yıkama başlatılır.

**4.4.3.11.** Yıkama bittiğinde kullanılmış flow cell, yıkama tablası ve yıkama şişesi cihaz üzerinde bırakılmamalıdır.

**4.5. Cihazın Kapatılması**

**4.5.1.** Cihaz kapatılmadan önce mutlaka Maintenance Yıkama yapılmalıdır.

**4.5.2.** Atık şişesinde bulunan atıklar boşaltılmalıdır ve yeniden atık şişesi yerine yerleştirilmelidir.

**4.5.3.** Ekrandan cihazı kapat seçeneği seçilerek yazılım kapatılır.

**4.5.4.** Daha sonra cihaz kapatma düğmesinden kapatılır.

**4.5.5.** Cihaz yeniden açılmadan önce mutlaka 60 sn. beklenmelidir.

**5. İLGİLİ DOKÜMANLAR**

**5.1.1.** Yeni nesil dizileme işlem talimatı

**5.1.2.** Miseq yükleme formu

<b>HAZIRLAYAN:</b>	<b>GÖZDEN GEÇİREN/KONTROL EDEN:</b>	<b>ONAYLAYAN:</b>
SÜREÇ SORUMLUSU	KALİTE TEMSİLCİSİ	BAŞHEKİM