

illumina®

# NovaSeq 6000

Handbuch zum Sequenziersystem

ILLUMINA – EIGENTUMSRECHTLICH GESCHÜTZT

Dokument-Nr. 1000000019358 v18

April 2025

**Nur für Forschungszwecke. Nicht zur Verwendung in Diagnoseverfahren.**

Dieses Dokument und sein Inhalt sind Eigentum von Illumina, Inc. sowie deren Partner-/Tochterunternehmen („Illumina“) und ausschließlich für den bestimmungsgemäßen Gebrauch durch den Kunden in Verbindung mit der Verwendung des hier beschriebenen Produkts/der hier beschriebenen Produkte und für keinen anderen Bestimmungszweck ausgelegt. Dieses Dokument und sein Inhalt dürfen ohne schriftliches Einverständnis von Illumina zu keinem anderen Zweck verwendet oder verteilt bzw. anderweitig übermittelt, offengelegt oder auf irgendeine Weise reproduziert werden. Illumina überträgt mit diesem Dokument keinerlei Lizenzen unter seinen Patent-, Marken-, Urheber- oder Gewohnheitsrechten bzw. ähnlichen Rechten Dritter.

Die Anweisungen in diesem Dokument müssen von qualifiziertem und entsprechend ausgebildetem Personal genau befolgt werden, damit die in diesem Dokument beschriebene Verwendung des Produkts/der Produkte sicher und ordnungsgemäß erfolgt. Vor der Verwendung dieser Produkte muss der Inhalt dieses Dokuments vollständig gelesen und verstanden worden sein.

FALLS NICHT ALLE HIERIN AUFGEFÜHRTEN ANWEISUNGEN VOLLSTÄNDIG GELESEN UND BEFOLGT WERDEN, KÖNNEN PRODUKTSCHÄDEN, VERLETZUNGEN DER BENUTZER UND ANDERER PERSONEN SOWIE ANDERWEITIGE SACHSCHÄDEN EINTRETEN UND JEDLICHE FÜR DAS PRODUKT/DIE PRODUKTE GELTENDE GEWÄHRLEISTUNG ERLISCHT.

ILLUMINA ÜBERNIMMT KEINERLEI HAFTUNG FÜR SCHÄDEN, DIE AUS DER UNSACHGEMÄSSEN VERWENDUNG DER HIERIN BESCHRIEBENEN PRODUKTE (EINSCHLIESSLICH TEILEN HIERVON ODER DER SOFTWARE) ENTSTEHEN.

© 2.025 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Inhaber. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

# Inhaltsverzeichnis

<b>Überblick</b> .....	<b>1</b>
Einleitung .....	1
Sequenzierungsüberblick .....	3
Sequenzierungsworkflow .....	4
Gerätekomponenten .....	7
<b>Kits und Zubehör</b> .....	<b>14</b>
Kits-Überblick .....	14
Komponenten des Reagenzien-Kits .....	16
Komponenten der NovaSeq Xp-Kits .....	20
NovaSeq Xp-Fließzellenstation .....	21
Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien und Ausstattung .....	22
Symbolbeschreibungen .....	26
<b>Systemkonfiguration</b> .....	<b>28</b>
Starten des Geräts .....	28
Konfigurieren der Einstellungen .....	30
<b>Standard-Workflow: Vorbereiten von Verbrauchsmaterialien</b> ..	<b>38</b>
Best Practices .....	38
Auftauen von SBS- und Clusterkartuschen .....	38
Leeren der Flaschen für benutzte Reagenzien .....	40
Vorbereiten der Fließzelle .....	41
Poolen und Denaturieren von Bibliotheken für die Sequenzierung .....	41
<b>NovaSeq Xp-Workflow: Vorbereiten von</b>	
<b>Verbrauchsmaterialien</b> .....	<b>43</b>
Zusammenfassung des NovaSeq Xp-Workflows .....	43
Methoden .....	44
Auftauen von SBS- und Clusterkartuschen .....	45
Leeren der Flaschen für benutzte Reagenzien .....	46
Vorbereiten von Fließzelle und Station .....	47
Auftauen von ExAmp-Reagenzien .....	47
Vakuumdruck der Fließzelle überprüfen .....	48
Poolen, Denaturieren und Laden von Bibliotheken für die Sequenzierung .....	49
<b>Sequenzierung</b> .....	<b>55</b>

Konfigurieren eines Sequenzierungslaufs .....	55
Überwachen des Lauffortschritts .....	64
Gestaffelter Start von Läufen .....	65
Löschen des Laufs .....	66
Lösen von Position 30 .....	66
Automatische Nachwaschung .....	67
<b>Wartung .....</b>	<b>69</b>
Präventive Wartung .....	69
Durchführen eines Wartungswaschlaufs .....	69
Software-Updates .....	74
<b>Fehlerbehebung .....</b>	<b>76</b>
Ressourcen für die Fehlerbehebung .....	76
Dateien für die Fehlerbehebung .....	76
Fehler beim Selbsttest .....	77
Fehlerbehebung bei der Prozessverwaltung .....	78
Lauffehler vor Clustering .....	78
Beenden eines Laufs .....	80
Ausschalten des Geräts .....	80
<b>Real-Time Analysis .....</b>	<b>82</b>
Überblick über Real-Time Analysis .....	82
Real-Time Analysis-Workflow .....	85
<b>Ausgabeordner und -dateien .....</b>	<b>89</b>
Ordnerstruktur der Sequenzierungsausgabe-Daten .....	89
Ausgabedateien der Sequenzierung .....	90
<b>Windows-Sicherheit .....</b>	<b>91</b>
Kennwortanforderungen .....	91
Windows-Firewall .....	91
Enhanced Mitigation Experience Toolkit .....	91
Software Restriction Policies .....	91
<b>Erwägungen zum NextSeq 6000Dx-Forschungsmodus .....</b>	<b>94</b>
Einleitung .....	94
NovaSeq 6000Dx Lauf-Planungsoptionen .....	94
Kompatibilität der NovaSeq 6000Dx-Verbrauchsmaterialien .....	95
NovaSeq 6000Dx-Gerätmodusanzeigen .....	95

Quellen und Verweise .....	96
Versionsverlauf .....	96

# Überblick

## Einleitung

Das Illumina® NovaSeq™ 6000-Systempaket ist eine für Produktionsumgebungen geeignete Plattform, die skalierbaren Durchsatz und flexible Sequenzierungstechnologie mit der Effizienz und der Kosteneffektivität eines Tischsystems vereint.

## Funktionen

- **Skalierbare Sequenzierung:** Das NovaSeq 6000 eignet sich für Sequenzierungen in Produktionsumgebungen und liefert qualitativ hochwertige Daten für eine große Bandbreite an Anwendungen.
- **Anpassbare Ausgabe:** Das NovaSeq 6000 ist ein System für zwei Fließzellen mit einer großen Bandbreite an Ausgabeoptionen. Sie können eine Fließzelle oder zwei Fließzellen mit unterschiedlichen Read-Längen gleichzeitig sequenzieren. Es können vier Fließzellentypen sowie unterschiedliche Read-Längen gleichzeitig verwendet werden.
- **Strukturierte Fließzellen:** Eine strukturierte Fließzelle erzeugt dicht verteilte Cluster. Die geringeren Abstände zwischen den Nanowells erhöhen die hohe Clusterdichte und Datenausgabe.
- **ExAmp-Mischen im Gerät:** Das NovaSeq 6000 vermischt die ExAmp-Reagenzien mit der Bibliothek, amplifiziert die Bibliothek und führt die Clusterbildung für einen optimierten Sequenzierungs-Workflow durch.
- **Beladen einzelner Lanes:** Die NovaSeq Xp-Fließzellenstation ermöglicht es, einzelne Fließzellen-Lanes vorab mit Bibliotheken zu beladen, und verringert das Bibliotheksladevolumen.
- **Zeilenscan mit hohem Durchsatz:** Die Kamera des NovaSeq 6000 scannt die Fließzelle in beide Richtungen und erzeugt so schnell ein Bild beider Farbkanäle gleichzeitig.
- **Real-Time Analysis (RTA)** – Das NovaSeq 6000 verwendet eine Implementierung von RTA namens RTA3. Diese integrierte Software analysiert Bilder und führt Base-Calls durch.
- **BaseSpace Sequence Hub-Integration:** Der Sequenzierungs-Workflow ist mit BaseSpace Sequence Hub integriert, der Genomik-Computing-Umgebung von Illumina für Datenanalyse, Speicherung und Zusammenarbeit. Während der Durchführung des Laufs werden Ausgabedateien in Echtzeit an die Umgebung gestreamt.
- **BaseSpace Clarity LIMS-bereit:** Verbessern Sie die Betriebseffizienz dank End-to-End-Überwachung von Proben und Reagenzien, automatischen Workflows und integriertem Gerätebetrieb.

- **Illumina Connected Analytics-Integration:** NovaSeq Control Software v1.8 und höher ist in die Genomik-Cloud-Umgebung von Illumina Connected Analytics Illumina für Datenanalyse, Speicherung und Zusammenarbeit integriert. Wenn ICA in Ihrer Region aktiviert ist, können Sie Ihre ICA-Domäne während der Laufkonfiguration auswählen. Während der Durchführung des Laufs werden Ausgabedateien in Echtzeit an die Umgebung gestreamt.

## Weitere Ressourcen

Auf den Supportseiten zum [NovaSeq 6000-Sequenziersystem](#) auf der Illumina-Website finden Sie weitere Systemressourcen. Diese umfassen Software, Schulungsmaterial, Informationen zu kompatiblen Produkten und die folgende Dokumentation. Vergewissern Sie sich stets auf den Support-Websites, dass Sie über die aktuellen Versionen verfügen.

<b>Ressource</b>	<b>Description (Beschreibung)</b>
<i>NovaSeq Series Safety and Compliance Guide (NovaSeq-Serie Leitfaden zur Sicherheit und Compliance) (Dokument-Nr. 1000000019357)</i>	Enthält Informationen zur Betriebssicherheit, zu Compliance-Erklärungen sowie zu Gerätekennzeichnungen.
<i>Compliance-Leitfaden für RFID-Lesegeräte (Dokument-Nr. 1000000002699)</i>	Bietet Informationen zum integrierten RFID Reader des Geräts, einschließlich Compliance-Zertifizierungen sowie sicherheitsbezogener Informationen.
<i>Handbuch für anwendungsspezifische Primer für die NovaSeq Series (Dokument-Nr. 1000000022266)</i>	Bietet Informationen zum Ersetzen von Illumina-Sequenzierungs-Primern durch anwendungsspezifische Sequenzierungs-Primer.
<i>NovaSeq 6000 Handbuch zum Sequenziersystem (Dokument-Nr. 1000000019358)</i>	Bietet einen Überblick über Gerätekomponenten, Anweisungen für die Vorbereitung von Verbrauchsmaterialien für die Sequenzierung, Anweisungen für den Betrieb des Geräts sowie Wartungs- und Fehlerbehebungsverfahren.

# Sequenzierungsüberblick

## Clusterbildung

Während der Clusterbildung werden einzelne DNA-Moleküle an der Oberfläche der Fließzelle gebunden und gleichzeitig amplifiziert, um Cluster zu bilden. Beim Standard-Workflow wird die ExAmp-Master-Mischung vor der Clusterbildung im Gerät mit den Bibliotheken vermischt. Beim NovaSeq Xp-Workflow werden die ExAmp-Reagenzien und die Bibliotheken außerhalb des Geräts vermischt und auf die Fließzelle gegeben. Die Volumen variieren je nach Fließzellentyp und Workflow.

## Sequenzierung

Cluster werden über bidirektionales Scannen und Zweikanal-Sequenzierungsschemie abgebildet. Die Kamera verwendet Sensoren, die rotes und grünes Licht erkennen, um jeden Bildstreifen abzubilden und gleichzeitig rote und grüne Bilder des gesamten Bildstreifens zu generieren. Nach dem Generieren der Bilder wird für jeden Cluster in den einzelnen Platten basierend auf dem Verhältnis der roten und grünen Signale der einzelnen Cluster ein Base-Calling durchgeführt. Dieses Verhältnis basiert auf dem durch die strukturierte Fließzelle festgelegten Standort. Dieser Vorgang wird für jeden Sequenzierungszyklus wiederholt.

## Analyse

Während der Durchführung des Laufs überträgt NovaSeq Control Software (NVCS) automatisch Base-Call-Dateien (\*.cbcl) zwecks Datenanalyse an den angegebenen Ausgabeordner-Speicherort.

Je nach verwendeter Anwendung stehen verschiedene Analysemethoden zur Verfügung. Weitere Informationen finden Sie auf den [BaseSpace Sequence Hub Support-Seiten auf der Illumina-Website](#).

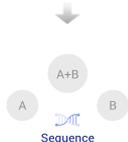
# Sequenzierungsworkflow



Tauen Sie SBS- und Clusterreagenzienkartuschen auf.



Fassen Sie Bibliotheken in einem Pool zusammen und denaturieren Sie sie. Geben Sie beim Standard-Workflow Bibliotheken in das Bibliotheksröhrchen. Laden Sie beim NovaSeq Xp-Workflow die ExAmp-Bibliothek-Mischung auf die Fließzelle. Laden Sie bei beiden Workflows das Bibliotheksröhrchen in die aufgetaute Clusterkartusche. Weitere Informationen finden Sie im [Denaturierungs- und Verdünnungsprotokollgenerator](#).



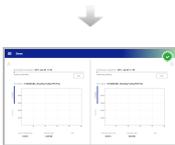
Wählen Sie über die Softwareoberfläche **Sequence** (Sequenzieren) und geben Sie einen Lauf mit zwei oder einer Fließzelle an.



Entladen Sie die Verbrauchsmaterialien aus dem vorherigen Lauf und laden Sie neue Verbrauchsmaterialien für den aktuellen Lauf.



Geben Sie über den Bildschirm „Run Setup“ (Laufkonfiguration) die Laufparameter an. Wenn BaseSpace Sequence Hub konfiguriert ist, melden Sie sich über den Bildschirm „Log In“ (Anmelden) an. Nach Abschluss der Selbsttests startet der Lauf automatisch.



Überwachen Sie den Lauf über den Bildschirm „Sequence“ (Sequenzieren) über BaseSpace Sequence Hub (wenn die Laufüberwachung aktiviert ist) oder einen Netzwerkcomputer mithilfe des Sequenzierungsanalyse-Viewers. Die Daten werden in den angegebenen Ausgabeordner übertragen.



Nach Abschluss der Sequenzierung beginnt automatisch ein Gerätewaschlauf.

## Verfahren zum Laden von Bibliotheken

Bibliotheken werden, abhängig vom gewählten Workflow, mit einer der folgenden beiden Methoden auf eine NovaSeq 6000-Fließzelle geladen. Wie ein Sequenzierungslauf konfiguriert wird, hängt vom Workflow ab. Stellen Sie sicher, dass Sie stets die Anweisungen für das jeweilige Verfahren befolgen. Beachten Sie [Standard-Workflow: Vorbereiten von Verbrauchsmaterialien auf Seite 38](#) und [NovaSeq Xp-Workflow: Vorbereiten von Verbrauchsmaterialien auf Seite 43](#).

Tisch 1 Verfahren zum Laden von Bibliotheken

Workflow	Verfahren zum Laden des Bibliothekspools und für die ExAmp-Mischung	Adressierbarkeit einzelner Lanes und Datenanalyse	Ladevolumen* Modi SP/S1, S2, S4 (µl)
<b>Standard</b>	Ein einzelner Bibliothekspool wird in das Bibliotheksröhrchen geladen, im Gerät im Bibliotheksröhrchen mit den ExAmp-Reagenzien gemischt und automatisch zur Clusterbildung und zur Sequenzierung auf die Fließzelle gegeben. Vor der Sequenzierung erfolgt ein Boost-Schritt mithilfe der Reagenzien in der Clusterkartusche und im Bibliotheksröhrchen, bei dem eine Konditionierungsmischung hergestellt wird, die die Effizienz der Clusterbildung erhöht.	Ein einzelner Bibliothekspool wird in alle Lanes der Fließzelle gegeben und sequenziert. Die Reads aus allen Lanes werden gemeinsam analysiert.	150, 225, 465 µl (gesamte Fließzelle)

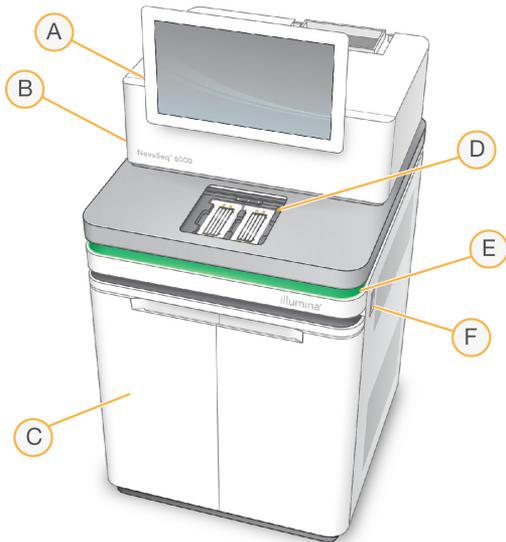
<b>Workflow</b>	<b>Verfahren zum Laden des Bibliothekspools und für die ExAmp-Mischung</b>	<b>Adressierbarkeit einzelner Lanes und Datenanalyse</b>	<b>Ladevolumen* Modi SP/S1, S2, S4 (µl)</b>
<b>NovaSeq Xp</b>	Eine oder mehrere Bibliotheken (die Anzahl entspricht der Anzahl der Fließzellen-Lanes) werden außerhalb des Gerät manuell mit ExAmp-Reagenzien vermischt und mit der NovaSeq Xp-Fließzellenstation direkt in die einzelnen Lanes der Fließzelle geladen. Die befüllte Fließzelle wird dann zur Clusterbildung und zur Sequenzierung in das Gerät eingesetzt. Vor der Sequenzierung werden in einem Boost-Schritt Reagenzien aus der Clusterkartusche in einem leeren Bibliotheksröhrchen gemischt. Damit wird eine Konditionierungsmischung hergestellt, die die Effizienz der Clusterbildung erhöht.	Die einzelnen Bibliotheken werden in separate Lanes der Fließzelle geladen und anschließend sequenziert. Es können unterschiedliche Pools, Aliquots desselben Pools oder beliebige Kombinationen verwendet werden. Reads aus den unterschiedlichen Lanes werden entsprechend einzeln oder gemeinsam analysiert.	27, 33, 45 µl (einzelne Lane)

\* Der NovaSeq Xp-Workflow erfordert eine um 25–50 % niedrigere Konzentration der denaturierten Bibliotheken als der Standard-Workflow.

## Gerätekomponenten

Das NovaSeq 6000-Sequenziersystem umfasst einen Touchscreen-Monitor, eine Statusleiste, eine Ein/Aus-Taste, neben der sich USB-Anschlüsse befinden, und drei Kammern.

Abbildung 1 Externe Komponenten



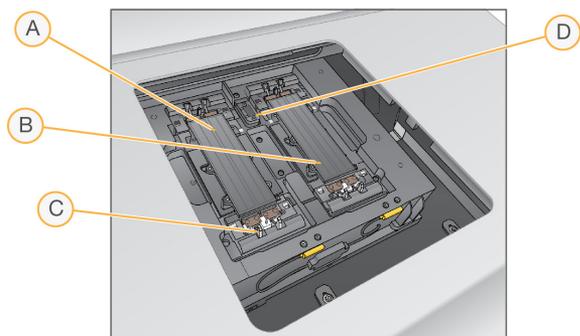
- A. **Touchscreen-Monitor:** Zeigt die NVCS-Oberfläche für die Systemkonfiguration sowie die Laufkonfiguration und -überwachung an.
- B. **Optikkammer:** Enthält die optischen Komponenten, die die duale Oberflächenbildgebung von Fließzellen ermöglichen.
- C. **Flüssigkeitskammer:** Enthält Reagenz- und Pufferkartuschen sowie Flaschen für benutzte Reagenzien.
- D. **Fließzellenkammer:** Enthält die Fließzellen.
- E. **Statusleiste:** Zeigt den Status der Fließzelle an: bereit für die Sequenzierung (grün), in Verarbeitung (blau) oder erfordert Überprüfung (orange).
- F. **Netz- und USB-Anschlüsse:** Bietet Zugriff auf den Netzschalter und USB-Anschlüsse für Peripheriekomponenten.

## Fließzellenkammer

Die Fließzellenkammer enthält den Fließzellentisch, auf dem sich links Fließzelle A und rechts Fließzelle B befinden. Jede Seite hat vier Klemmen, die die Fließzelle automatisch positionieren und halten.

Ein Ziel für die Justierung der Optik auf dem Fließzellentisch dient zur Diagnose und Korrektur von Problemen mit der Optik. Bei Aufforderung durch die NVCS wird das System mithilfe des Ziels für die Justierung der Optik neu justiert und der Kamerafokus angepasst, um die Sequenzierungsergebnisse zu verbessern.

Abbildung 2 Fließzellentisch



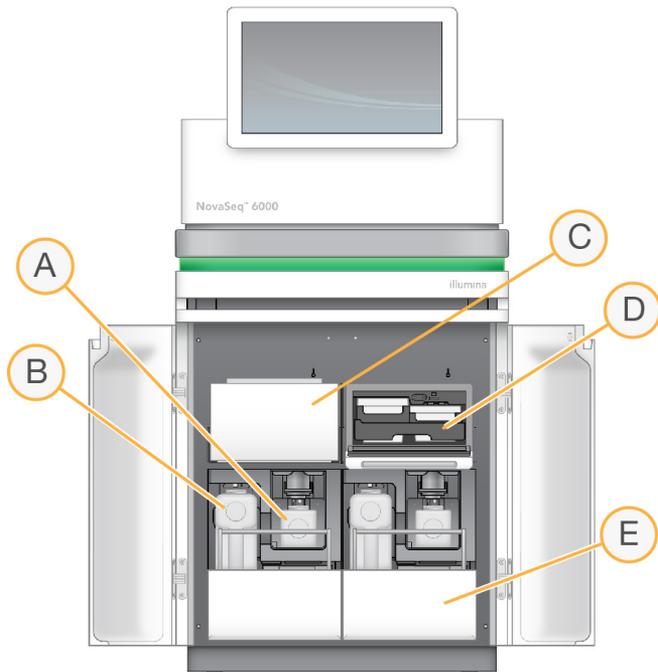
- A. Fließzellenhalter Seite A
- B. Fließzellenhalter Seite B
- C. Fließzellenklemme (eine von vier je Seite)
- D. Ziel für die Justierung der Optik

Die Software steuert das Öffnen und Schließen der Fließzellenkammertür. Die Tür öffnet sich automatisch, um eine Fließzelle für einen Lauf oder einen Wartungswaschlauf zu laden. Nach dem Laden schließt die Software die Kammertür, positioniert die Fließzelle und aktiviert die Klemmen und die Vakuumdichtung. Sensoren prüfen, ob die Fließzelle vorhanden und kompatibel ist.

## Flüssigkeitskammer

Das Konfigurieren eines Laufs erfordert Zugang zur Flüssigkeitskammer, um Reagenzien und Puffer zu laden und die Flaschen für benutzte Reagenzien zu leeren. Die Flüssigkeitskammer, die in zwei gleiche Seiten für Fließzelle A und Fließzelle B unterteilt ist, wird von zwei Türen verschlossen.

Abbildung 3 Komponenten der Flüssigkeitskammer



- A. **Kleine Flasche für benutzte Reagenzien:** Enthält benutzte Reagenzien aus der Clusterkartusche. Verfügt über eine Kappenhalterung für die einfache Aufbewahrung von Kappen.
- B. **Große Flasche für benutzte Reagenzien:** Enthält benutzte Reagenzien aus den SBS- und Pufferkartuschen. Verfügt über eine Kappenhalterung für die einfache Aufbewahrung von Kappen.
- C. **Reagenzienkühler:** Kühlt die SBS- und Clusterkartuschen.
- D. **Schublade für Reagenzienkühler:** Farbcodierte Positionen enthalten die SBS-Kartusche links (graues Etikett) und die Clusterkartusche rechts (oranges Etikett).
- E. **Pufferschublade:** Enthält links die große Flasche für benutzte Reagenzien und rechts die Pufferkartusche.

## Benutzte Reagenzien

Das Fluidiksystem wurde so entwickelt, dass Clusterkartuschenreagenzien, die potenziell gefährlich sind, in die kleine Flasche für benutzte Reagenzien geleitet werden. Reagenzien aus den SBS- und Pufferkartuschen werden in die große Flasche für benutzte Reagenzien geleitet. Jedoch kann es zu

Kreuzkontaminierung zwischen benutzten Reagenzienströmen kommen. Behandeln Sie beide Flaschen für benutzte Reagenzien so, als ob sie potenziell gefährliche Chemikalien enthalten. Das Sicherheitsdatenblatt (SDS) enthält genaue chemische Informationen.

**i** | Ist das System zum externen Sammeln benutzter Reagenzien konfiguriert, wird der Strom zur großen Flasche für benutzte Reagenzien extern weitergeleitet. Clusterkartuschenreagenzien werden stets in die kleine Flasche für benutzte Reagenzien weitergeleitet.

## Systemsoftware

Die Gerätesoftware-Suite umfasst integrierte Anwendungen für die Durchführung von Sequenzierungsläufen, die Geräteanalyse und zugehörige Funktionen.

- **NovaSeq Control Software (NVCS):** Die Steuerungssoftware führt Sie durch die Schritte für die Konfiguration eines Sequenzierungslaufs, steuert den Gerätebetrieb und zeigt während der Durchführung des Laufs Statistiken an. Die NVCS spielt während der Laufkonfiguration zum Demonstrieren des ordnungsgemäßen Entladens und Ladens von Verbrauchsmaterialien Anleitungsvideos ab.
- **Real-Time Analysis (RTA):** Führt Bildanalyse und Base-Calling während eines Laufs durch. NovaSeq 6000 verwendet RTA3, das Architektur-, Sicherheits- und andere Funktionserweiterungen zur Leistungsoptimierung umfasst. Weitere Informationen finden Sie unter [Real-Time Analysis auf Seite 82](#).
- **Universal Copy Service (UCS):** Kopiert während eines Laufs Ausgabedateien von RTA3 und NVCS in den Ausgabeordner. Ggf. überträgt der Dienst auch Daten an BaseSpace Sequence Hub. Wenn der Universal Copy Service während eines Laufs unterbrochen wird, versucht der Dienst mehrmals, eine neue Verbindung herzustellen und die Datenübertragung automatisch wieder aufzunehmen.

## Statussymbole

Ein Statussymbol auf der Oberfläche von NVCS zeigt den Laufstatus an. Eine Zahl auf dem Symbol zeigt die Anzahl der Zustände für einen Status an.

Ändert sich der Laufstatus, blinkt das Symbol, um Sie zu warnen. Wählen Sie das Symbol, um eine Beschreibung der Zustände anzuzeigen. Wählen Sie **Acknowledge** (Bestätigen), um die Meldung zu löschen, und dann **Close** (Schließen), um das Dialogfeld zu schließen.

Tisch 2 NVCS-Statussymbole

Statussymbol	Statusname	Description (Beschreibung)
	Status OK	Das System funktioniert normal.

Statussymbol	Statusname	Description (Beschreibung)
	Verarbeitung	Das Gerät führt die Verarbeitung durch.
	Warnung	Eine Warnung ist aufgetreten und muss überprüft werden. Warnungen stoppen einen Lauf nicht, und es ist keine Aktion erforderlich, damit der Lauf fortgesetzt werden kann.
	Fehler	Ein Fehler ist aufgetreten. Bei Fehlern sind Maßnahmen erforderlich, bevor der Lauf fortgesetzt werden kann.

## Prozessmanagement

Der Prozessmanagement-Bildschirm bietet Zugriff auf die Compute Engine (CE) und das Laufwerk C. Verwenden Sie den Bildschirm, um den Lauffortschritt zu überwachen, Läufe zu löschen und anderweitig den Speicherplatz zu verwalten. Löschen Sie niemals Dateien und Ordner direkt vom Laufwerk C.

Auf dem Bildschirm „Process Management“ (Prozessmanagement) werden der verfügbare Speicherplatz, der auf der CE und auf C verwendete Speicherplatz sowie der Status der Läufe, die Speicherplatz verwenden, angezeigt. Die Spalten „Run Date“ (Laufdatum) und „Name“ identifizieren jeden Lauf. Die Spalten „Run Status“ (Laufstatus), „BaseSpace“ und „Network“ (Netzwerk) zeigen den Status für jeden Prozess eines Laufs.

Tisch 3 Statussymbole in „Process Management“ (Prozessmanagement)

Prozess	Symbol	Description (Beschreibung)
<b>Laufstatus</b>	 Läuft	Der Lauf wird ausgeführt.
	 Abgeschlossen	Der Lauf hat die Sequenzierung abgeschlossen.

Prozess	Symbol	Description (Beschreibung)
Netzwerk	 Wird kopiert	Es werden Dateien in den Ausgabeordner im Netzwerk kopiert.
	 Abgeschlossen	Alle Dateien wurden in den Ausgabeordner im Netzwerk kopiert.
	N. z.	Trifft nicht zu, weil der Lauf nicht zum Hochladen in einen Ausgabeordner im Netzwerk konfiguriert ist oder der Status des Hochladevorgangs unbekannt ist. Informationen zur Fehlerbehebung finden Sie unter <a href="#">Fehlerbehebung bei der Prozessverwaltung auf Seite 78</a> .
Cloud	 Wird hochgeladen	Dateien werden in die ausgewählte Cloud-Hosting-Option hochgeladen.
	 Abgeschlossen	Alle Dateien werden in die ausgewählte Cloud-Hosting-Option hochgeladen.
	N. z.	Trifft nicht zu, weil der Lauf nicht zum Hochladen in die Cloud konfiguriert ist oder der Status des Hochladevorgangs unbekannt ist. Informationen zur Fehlerbehebung finden Sie unter <a href="#">Fehlerbehebung bei der Prozessverwaltung auf Seite 78</a> .

## Mindestspeicheranforderungen

Bevor ein Fließzellenlauf gestartet werden kann, müssen die Mindestspeicheranforderungen für CE und Laufwerk C erfüllt sein.

**i** | Bei Läufen mit einer Fließzelle entspricht die Mindestspeicheranforderung der Hälfte des in der folgenden Tabelle angegebenen Werts.

Tisch 4 Mindestspeicheranforderungen für CE und C:\ bei Läufen mit zwei Fließzellen

Fließzelle	CE-Speicherplatz pro Zyklus (GB)	C:\-Speicherplatz pro Fließzellenpaar (GB)
SP	0,5	5
S1	1,35	20
S2	2,7	20
S4	4,3	40

Multiplizieren Sie zur Berechnung des in der CE insgesamt erforderlichen Speicherplatzes den CE-Speicherplatz pro Zyklus mit der Summe der Längenwerte für Read 1, Read 2, Index 1 und Index 2 (siehe [Eingeben von Laufparametern auf Seite 60](#)). Beispielsweise sind für einen Paired-End-Lauf mit 150 Zyklen auf zwei S4-Fließzellen, bei dem beide Indizes 8 Basen lang sind, mindestens 1,37 TB Speicherplatz erforderlich.

Informationen zum Freigeben von Speicherplatz finden Sie unter [Löschen des Laufs auf Seite 66](#).

# Kits und Zubehör

## Kits-Überblick

Für die Ausführung eines Laufs auf dem NovaSeq 6000 ist ein NovaSeq 6000-Reagenzien-Kit erforderlich. Für den NovaSeq Xp-Workflow ist zusätzlich ein NovaSeq Xp-Kit erforderlich. Diese Kits sind in den folgenden Konfigurationen verfügbar.

Eine vollständige Liste der für einen Lauf erforderlichen Materialien finden Sie unter [Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien und Ausstattung auf Seite 22](#).

Tisch 5 Kit-Konfigurationen

Name des Kits	v1.0-Reagenzien Illumina-Katalog-Nr.	v1.5-Reagenzien Illumina-Katalog-Nr.
NovaSeq 6000 S4-Reagenzien-Kit (300 Zyklen) – 40er-Pack	20039236	N. z.
NovaSeq 6000 S4-Reagenzien-Kit (300 Zyklen) – 20er-Pack	20039234	N. z.
NovaSeq 6000 S4-Reagenzien-Kit (300 Zyklen) – 10er-Pack	20039233	N. z.
NovaSeq 6000 S4-Reagenzien-Kit (300 Zyklen)	20012866	20028312
NovaSeq 6000 S4-Reagenzien-Kit (200 Zyklen)	20027466	20028313
NovaSeq 6000 S4-Reagenzien-Kit (35 Zyklen)	N. z.	20044417
NovaSeq 6000 S2-Reagenzien-Kit (300 Zyklen)	20012860	20028314
NovaSeq 6000 S2-Reagenzien-Kit (200 Zyklen)	20012861	20028315
NovaSeq 6000 S2-Reagenzien-Kit (100 Zyklen)	20012862	20028316
NovaSeq 6000 S1-Reagenzien-Kit (300 Zyklen)	20012863	20028317
NovaSeq 6000 S1-Reagenzien-Kit (200 Zyklen)	20012864	20028318
NovaSeq 6000 S1-Reagenzien-Kit (100 Zyklen)	20012865	20028319
NovaSeq 6000 SP-Reagenzien-Kit (500 Zyklen)	20029137	20028402
NovaSeq 6000 SP-Reagenzien-Kit (300 Zyklen)	20027465	20028400
NovaSeq 6000 SP-Reagenzien-Kit (200 Zyklen)	20040326	20040719
NovaSeq 6000 SP-Reagenzien-Kit (100 Zyklen)	20027464	20028401

## Kennzeichnung für Kompatibilität

Zur Bestimmung kompatibler Kit-Komponenten sind Fließzellen und Kartuschen mit Symbolen gekennzeichnet, die den Kit-Modus angeben: **SP**, **S1**, **S2** oder **S4**. NovaSeq Xp-Manifolds eignen sich für mehrere Modi und sind mit „2-lane“ (für SP-, S1- und S2-Fließzellen) oder „4-lane“ (für S4-Fließzellen) gekennzeichnet.

Komponenten mit unterschiedlichen Modi können nicht im selben Lauf verwendet werden. Geben Sie beispielsweise keine S1-Kartuschen in eine S2-Fließzelle.

Die gleichzeitige Verwendung von SBS-/CPE-Kartuschen der Versionen 1.0 und 1.5 ist nicht zulässig und hat eine Fehlermeldung zur Folge.

Kit-Modus	Markierung auf Etikett	Description (Beschreibung)
SP-Kit-Komponenten		SP-Fließzellen generieren 650 bis 800 Millionen Single-Reads nach Filterung mit einer Ausgabe von bis zu 250 Gb bei 2 x 150 bp und einer Ausgabe von bis zu 400 Gb bei 2 x 250 bp.
S1-Kit-Komponenten		S1-Fließzellen generieren bis zu 1,6 Milliarden Single-Reads nach Filterung mit einer Ausgabe von bis zu 500 Gb bei 2 x 150 bp. Das S1-Kit bietet eine schnelle Sequenzierung einer geringeren Anzahl von Proben für die meisten Anwendungen mit hohem Durchsatz.
S2-Kit-Komponenten		S2-Fließzellen generieren bis zu 4,1 Milliarden Single-Reads nach Filterung mit einer Ausgabe von bis zu 1.250 Gb bei 2 x 150 bp. Es handelt sich um eine Fließzellenversion mit zwei Lanes. Die S2-Fließzelle bietet eine schnelle Sequenzierung für die meisten Anwendungen mit hohem Durchsatz, mit einer größeren Anzahl an Reads als die S1-Fließzelle für eine größere Sequenzierungsausgabe.
S4-Kit-Komponenten		S4-Fließzellen generieren bis zu 10 Milliarden Single-Reads nach Filterung mit einer Ausgabe von bis zu 3.000 Gb bei 2 x 150 bp. Es handelt sich um eine Fließzellenversion mit vier Lanes für eine maximale Ausgabe. Die S4-Fließzelle ermöglicht eine kosteneffiziente Sequenzierung des gesamten Genoms für eine Reihe von Spezies und Coverage-Tiefen.

Auf der NovaSeq 6000-Sequenziersystem-[Produktseite](#) auf der Illumina-Website sind detaillierte Spezifikationen für die einzelnen Modi bereitgestellt.

## Komponenten des Reagenzien-Kits

Jedes NovaSeq 6000-Reagenzien-Kit enthält die folgenden Komponenten. Für jede Komponente wird RFID (Radio Frequency Identification [Identifizierung mithilfe elektromagnetischer Wellen]) für die genaue Nachverfolgung von Verbrauchsmaterialien und Kompatibilität verwendet.

Lagern Sie die Komponenten nach dem Erhalt Ihres Kits bei der angegebenen Temperatur, um eine ordnungsgemäße Leistung sicherzustellen.

Tisch 6 Kit-Komponenten

Menge	Kit-Komponente	Lagerungstemperatur
1	Bibliotheksröhrchen	15 °C bis 30 °C
1	Fließzelle	2 °C bis 8 °C
1	Pufferkartusche	15 °C bis 30 °C
1	Clusterkartusche	-25 °C bis -15 °C
1	SBS-Kartusche	-25 °C bis -15 °C

! Lassen Sie Kartuschen nicht fallen. Werden sie fallen gelassen, kann es zu Verletzungen kommen. Aus Kartuschen austretende Reagenzien könnten Hautreizungen verursachen. Überprüfen Sie Kartuschen vor der Verwendung auf Risse.

### Bibliotheksröhrchen

Das NovaSeq 6000-Bibliotheksröhrchen ist ein Röhrchen von 16 mm, das in Position 8 der Clusterkartusche passt. Position 8 ist zur einfachen Identifizierung mit **Library Tube** (Bibliotheksröhrchen) und einem orangefarbenen Kreis gekennzeichnet. Das Röhrchen verfügt über eine Schraubkappe, sodass Bibliotheken bei Bedarf gelagert werden können. Stellen Sie sicher, dass die Kappe vor dem Laden in die Clusterkartusche entfernt wurde.

Abbildung 4 Bibliotheksröhrchen



Das Bibliotheksröhrchen wird je nach Workflow in einer von zwei Arten verwendet:

- **Standard:** Gepoolte und denaturierte Bibliotheken werden in das Bibliotheksröhrchen gegeben. Anschließend wird dieses ohne Kappe in die Clusterkartusche geladen. Nachdem der Lauf gestartet wurde, mischt das Gerät die Bibliotheken im Bibliotheksröhrchen mit ExAmp-Reagenzien. Anschließend wird die Mischung automatisch auf die Fließzelle gegeben.

- **NovaSeq Xp:** Das leere Bibliotheksröhrchen wird ohne Kappe in die Clusterkartusche eingesetzt. Die Reagenzien werden während des Laufs im Bibliotheksröhrchen gemischt, bevor sie auf die Fließzelle gegeben werden.

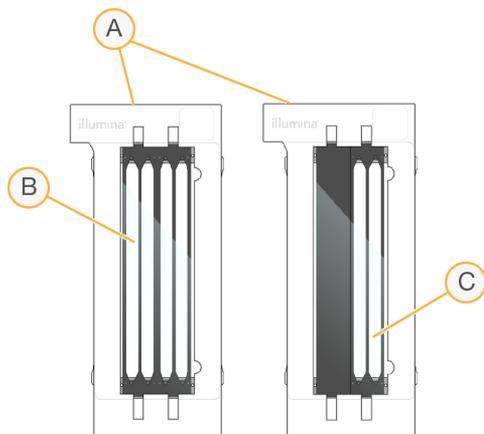
## Fließzelle

Die NovaSeq 6000-Fließzelle ist eine strukturierte Fließzelle in einer Kartusche. Bei der Fließzelle handelt es sich um einen Glasträger mit Milliarden von Nanowells in einer geordneten Struktur, die mehr Ausgabe-Reads und Sequenzierungsdaten ermöglicht. In den Nanowells werden Cluster gebildet, aus denen dann die Sequenzierung durchgeführt wird.

Jede Fließzelle verfügt über mehrere Lanes zum Sequenzieren gepoolter Bibliotheken. Die SP-, S1- und S2-Fließzellen verfügen über je zwei Lanes und die S4-Fließzelle hat vier. Jede Lane wird auf mehreren Bildstreifen abgebildet. Anschließend teilt die Software das Bild jedes Bildstreifens in kleinere Teile. Diese werden als Platten bezeichnet. Weitere Informationen finden Sie unter [Fließzellenplatten auf Seite 83](#).

- i** | Stellen Sie bei Verwendung einer S1-Fließzelle sicher, dass NVCS v1.3.1 oder höher verwendet wird. Stellen Sie bei Verwendung einer SP-Fließzelle sicher, dass NVCS v1.6 oder höher verwendet wird.

Abbildung 5 Fließzellen

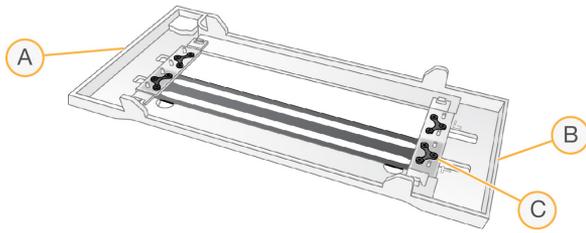


- A. Fließzellenkartusche  
 B. Fließzelle mit vier Lanes (S4)  
 C. Fließzelle mit zwei Lanes (SP, S1 und S2)

An der Unterseite der einzelnen Fließzellen befinden sich vier Dichtungen. Bibliotheken und Reagenzien gelangen durch die Dichtungen an der Einlassseite der Fließzelle in die Lanes der Fließzellen. Benutzte Reagenzien werden durch die Dichtungen an der Auslassseite aus den Lanes entsorgt.

- i** | Berühren Sie die Dichtungen beim Umgang mit der Fließzelle nicht.

Abbildung 6 Invertierte Fließzelle



- A. Auslasseite
- B. Einlasseite
- C. Dichtung (eine von vier)

## Puffer-, Cluster- und SBS-Kartuschen

Die Puffer-, -Cluster- und SBS-Kartuschen des NovaSeq 6000 verfügen über Behälter mit Verschlussfolie, die mit Reagenzien, Puffern und Waschlösung vorgefüllt sind. Es ist jeweils eine Kartusche von jedem Typ im Reagenzien-Kit enthalten.

Die Kartuschen werden direkt in das Gerät geladen. Sie verfügen über Farbcodierungen und Etiketten, damit Fehler beim Laden reduziert werden können. Führungen in der Reagenzienkühlerschublade und in der Pufferschublade stellen die ordnungsgemäße Ausrichtung sicher.

Die Kennzeichnung der Kartuschen gibt u. a. die unterstützten Modi an, z. B. S1/S2 oder SP/S1/S2. Kartuschen können nur für die auf dem Etikett aufgeführten Modi verwendet werden.

Tisch 7 Reagenzienkartuschen

Kartusche	Description (Beschreibung)
<p>NovaSeq 6000-Pufferkartusche</p> 	<p>Vorgefüllt mit Sequenzierungspuffern (wiegt bis zu 6,8 kg). Ein Kunststoffgriff erleichtert das Tragen, Laden und Entladen. Vertiefungen an der oberen Platte ermöglichen das Stapeln von Kartuschen.</p>

Kartusche	Description (Beschreibung)
<p data-bbox="156 254 379 321">NovaSeq 6000-Clusterkartusche</p> 	<p data-bbox="528 254 1318 443">Vorgefüllt mit Clusterbildungs-, Indizierungs- und Paired-End-Reagenzien sowie einer Waschlösung. Verfügt über eine gekennzeichnete Position für das Bibliotheksrohrchen. Die orangefarbene Kennzeichnung unterscheidet die Clusterkartusche von der SBS-Kartusche.</p>
<p data-bbox="156 558 413 632">NovaSeq 6000SBS-Kartusche</p> 	<p data-bbox="528 558 1350 789">Vorgefüllt mit Sequenzierungsreagenzien mit Volumina, die der Anzahl an Zyklen entsprechen, die vom Kit unterstützt wird (500, 300, 200, 100 oder 35). Jede der drei Reagenzienpositionen verfügt über eine benachbarte Position, die für die automatische Nachwaschung reserviert ist. Die graue Kennzeichnung unterscheidet die SBS-Kartusche von der Clusterkartusche.</p>

## Behälter für Clusterkartuschen

### Herausnehmbarer Behälter

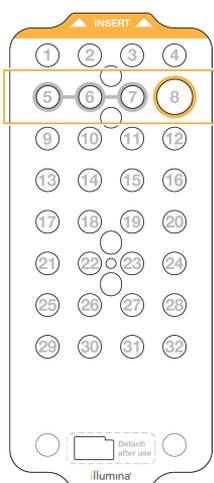
Ein denaturiertes Reagenz an Position 30 enthält Formamid, ein organisches Amid und fortpflanzungsgefährdendes Toxin. Für eine leichtere sichere Entsorgung nicht verwendeter Reagenzien nach dem Sequenzierungslauf ist dieser Behälter herausnehmbar.

**i** | Stapeln Sie die SBS-Kartusche nicht auf die Clusterkartusche, da dadurch Position 30 möglicherweise gelöst wird.

### Reservierte Behälter

Drei Behälter sind für anwendungsspezifische Primer und eine leere Position ist für das Bibliotheksrohrchen reserviert. Zur Verfolgung der Proben wird das Bibliotheksrohrchen während der Laufkonfiguration in die Clusterkartusche geladen. Dort verbleibt die Kartusche bis zum Ende des Laufs.

Abbildung 7 Nummerierte Behälter



Position	Vorbehalten für
5, 6 und 7	Optionale anwendungsspezifische Primer
8	Bibliotheksröhrchen

Weitere Informationen zu benutzerdefinierten Primern finden Sie unter *Handbuch für anwendungsspezifische Primer für die NovaSeq Series (Dokument-Nr. 1000000022266)*.

## Komponenten der NovaSeq Xp-Kits

Jedes NovaSeq Xp-Kit ist zum einmaligen Gebrauch bestimmt und enthält die folgenden Komponenten. Lagern Sie die Komponenten nach dem Erhalt Ihres Kits bei der angegebenen Temperatur, um eine ordnungsgemäße Leistung sicherzustellen.

**i** Die DPX1- und DPX2-Verbrauchsmaterialien sind u. U. als JPX1 und JPX2 gekennzeichnet. Beide sind mit Reagenzien-Kits der Versionen 1.0 und 1.5 kompatibel. DPX3 ist außerdem mit den Reagenzien-Kits v1.0 und v1.5 kompatibel.

Tisch 8 Komponenten der NovaSeq Xp-Kits

Menge	Kit-Komponente	Lagerungstemperatur
1	DPX1/JPX1	-25 °C bis -15 °C
1	DPX2/JPX2	-25 °C bis -15 °C
1	DPX3	-25 °C bis -15 °C
1	NovaSeq Xp- Manifold	Beim Kit belassen oder bei Raumtemperatur lagern.

## Xp-Kit-Reagenzien

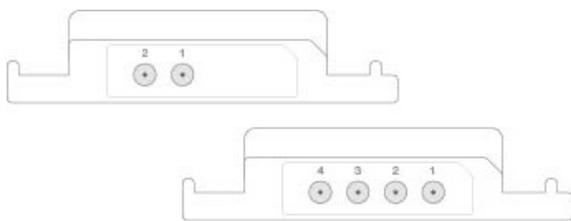
Bei DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 und DPX3 handelt es sich um ExAmp-Reagenzien, die in Einzelröhrchen dem NovaSeq Xp-Workflow zugeführt werden. Durch Kombination dieser Reagenzien erhält man die ExAmp-Master-Mischung, die mit den Bibliothekspools vermischt wird, bevor diese auf die Fließzelle geladen werden.

## NovaSeq Xp-Manifold

Das NovaSeq Xp-Manifold wird auf der NovaSeq Xp-Fließzellenstation platziert, damit Bibliothekspools direkt in einzelne Fließzellen-Lanes geladen werden können. Die Arme an beiden Seiten des NovaSeq Xp-Manifolds dienen zur einfachen Platzierung auf der Station.

NovaSeq Xp -Manifolds werden passend zu Fließzellen mit zwei Lanes und vier Lanes in Varianten mit zwei Wells und vier Wells bereitgestellt. Jeder Well entspricht einer Fließzellen-Lane. Da die Fließzelle mit der Unterseite nach oben in die NovaSeq Xp-Fließzellenstation geladen wird, sind die Wells von rechts nach links nummeriert, um der Nummerierung der Lanes einer umgekehrten Fließzelle zu entsprechen.

Abbildung 8 NovaSeq Xp-Manifolds mit nummerierten Wells

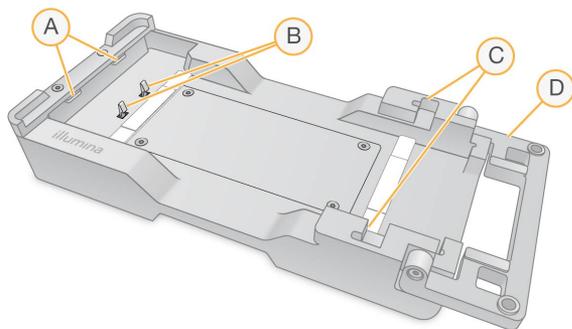


## NovaSeq Xp-Fließzellenstation

Bei der NovaSeq Xp-Fließzellenstation handelt es sich um ein wiederverwendbares Zubehör zum direkten Laden von Bibliotheken auf eine Fließzelle. Die Fließzelle wird umgedreht und in die Station geladen. Das NovaSeq Xp-Manifold wird über der Fließzelle angebracht.

Zwei Überstände (unter der Halterung) und zwei Federn dienen beim Einsetzen der Fließzelle als Führung und stellen die korrekte Ausrichtung sicher. Die Aussparungen gewährleisten die ordnungsgemäße Ausrichtung und den gleichmäßigen Sitz der Arme des NovaSeq Xp-Manifolds. Eine Magnetklemme rotiert um 180° und arretiert das NovaSeq Xp-Manifold über der Fließzelle.

Abbildung 9 NovaSeq Xp-Fließzellenstation



- A. Überstände (unter der Halterung) als Führung beim Laden
- B. Federn zur Ausrichtung der Fließzelle
- C. Aussparungen für die Aufnahme der Arme des NovaSeq Xp-Manifolds
- D. Sicherungsklemme für die Fließzelle und das NovaSeq Xp-Manifold

## Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien und Ausstattung

Die folgenden vom Benutzer bereitzustellenden Verbrauchsmaterialien sowie die entsprechende Ausstattung werden für die Vorbereitung der Verbrauchsmaterialien, die Sequenzierung und die Systemwartung verwendet.

### Verbrauchsmaterialien

Verbrauchsmaterial	Lieferant	Zweck
1 N NaOH	Allgemeiner Laborlieferant	Zum Verdünnen auf 0,2 N für das Denaturieren von Bibliotheken.
500-ml-Zentrifugenflasche	Allgemeiner Laborlieferant	Verdünnen von Tween 20 für einen Wartungswaschlauf.
30-ml-Zentrifugenröhrchen	Allgemeiner Laborlieferant	Verdünnen von NaOCl für einen Wartungswaschlauf.
Einweg-Handschuhe, ungepulvert	Allgemeiner Laborlieferant	Allgemeine Verwendung.
Isopropylalkoholtücher, 70 % oder Ethanolalkoholtupfer, 70 %	VWR, Katalog-Nr. 95041-714 (oder vergleichbar) Allgemeiner Laborlieferant	Säubern von Komponenten vor einem Lauf und allgemeine Verwendung.

Verbrauchsmaterial	Lieferant	Zweck
Labortücher, fusselfrei	VWR, Katalog-Nr. 21905-026 (oder vergleichbar)	Trocknen des Fließzellentisches und allgemeine Verwendung.
Mikrozentrifugenröhrchen, 1,5 ml	VWR, Katalog-Nr. 20170-038 oder vergleichbar	Zum Kombinieren von Volumina beim Verdünnen von NaOH und der Bibliothek.
Analysenreine NaOCl- Lösung, 5 %	Sigma-Aldrich, Katalog- Nr. 239305	Zum Durchführen eines Wartungswaschlaufs.
NovaSeq 6000-Reagenzien- Kit	Illumina, siehe <a href="#">Kits-Überblick auf Seite 14.</a>	Durchführen eines Sequenzierungslaufs.
Pipettenspitzen, 20 µl	Allgemeiner Laborlieferant	Zum Pipettieren zum Verdünnen und Laden von Bibliotheken.
Pipettenspitzen, 200 µl	Allgemeiner Laborlieferant	Zum Pipettieren zum Verdünnen und Laden von Bibliotheken.
Pipettenspitzen, 1000 µl	Allgemeiner Laborlieferant	Zum Pipettieren zum Verdünnen und Laden von Bibliotheken.
Isopropylalkohol (99 %) für Reagenzien oder Spektrophotometrie, 100-ml- Flasche	Allgemeiner Laborlieferant	Reinigen von Optikkomponenten in regelmäßigen Abständen und Unterstützen der Objektivreinigungskartusche.
Tris-HCl, pH 7,0	Allgemeiner Laborlieferant	Neutralisierung von denaturierten Bibliotheken.
Tween 20	Sigma-Aldrich, Katalog- Nr. P7949	Zum Durchführen eines Wartungswaschlaufs.
Wasser, Laborqualität	Allgemeiner Laborlieferant	Zum Verdünnen von NaOH für das Denaturieren von Bibliotheken. Verdünnen von Tween 20 und Natriumhypochlorit für einen Wartungswaschlauf.

Verbrauchsmaterial	Lieferant	Zweck
<b>[NovaSeq Xp-Workflow]</b> Eines der folgenden Kits: <ul style="list-style-type: none"> <li>• NovaSeq Xp 2-Lane-Kit</li> <li>• NovaSeq Xp 4-Lane-Kit</li> </ul>	Illumina: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Katalog-Nr. 20021664</li> <li>• Katalog-Nr. 20021665</li> </ul>	Manuelles Laden von Bibliotheken auf eine Fließzelle: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Zwei-Lane-Kit für SP-, S1- und S2-Fließzellen</li> <li>• Vier-Lane-Kit für S4-Fließzellen</li> </ul>
<b>[NovaSeq Xp-Workflow]</b> Eines der folgenden Kits: <ul style="list-style-type: none"> <li>• NovaSeq Xp 2-Lane-Kit v1.5</li> <li>• NovaSeq Xp 4-Lane-Kit v1.5</li> </ul>	Illumina: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Katalog-Nr. 20043130</li> <li>• Katalog-Nr. 20043131</li> </ul>	Manuelles Laden von Bibliotheken auf eine Fließzelle: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Zwei-Lane-Kit für SP-, S1- und S2-Fließzellen</li> <li>• Vier-Lane-Kit für S4-Fließzellen</li> </ul>
<b>[NovaSeq Xp-Workflow]</b> 0,5-ml- und 1,7-ml-Röhrchen	Allgemeiner Laborlieferant	Erforderlich für ExAmp-Mischung.
<b>[Optional]</b> Eines der folgenden Manifold-Pakete: <ul style="list-style-type: none"> <li>• NovaSeq Xp Verteilerpack 2-Lane</li> <li>• NovaSeq Xp Verteilerpack 4-Lane</li> </ul>	Illumina: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Katalog-Nr. 20021666</li> <li>• Katalog-Nr. 20021667</li> </ul>	Ersatz-Manifolds für NovaSeq Xp zum manuellen Laden von Bibliotheken auf eine Fließzelle.
<b>[Optional]</b> PhiX Control v3	Illumina, Katalog-Nr. FC-110-3001	Zum Versetzen mit einer PhiX-Kontrolle.

## Verbrauchsmaterialien in Illumina-Kits

Eine NovaSeq 6000-Reagenzien-Kit ist erforderlich, um eine Fließzelle zu sequenzieren. Jedes Kit besteht aus mehreren Verbrauchsmaterialien, die in der folgenden Tabelle aufgelistet sind. Für einen Lauf mit zwei Fließzellen müssen zwei Kit verwendet werden.

Tisch 9 Verbrauchsmaterialien in einem NovaSeq 6000-Reagenzien-Kit

Verbrauchsmaterialien (je eins)	Zweck
Pufferkartusche	Stellt Sequenzierungspuffer für den Lauf bereit.

Verbrauchsmaterialien (je eins)	Zweck
Clusterkartusche	Stellt Clusterbildungs-, Indizierungs- und Paired-End-Reagenzien für den Lauf bereit.
Fließzelle	Die Clusterbildungs- und Sequenzierungsreaktion findet auf der Fließzelle statt.
SBS-Kartusche	Stellt Sequenzierungsreagenzien für den Lauf bereit.
Bibliotheksröhrchen	Leeres Röhrchen, das zur Aufnahme der gepoolten und denaturierten Bibliotheken (vom Kunden bereitgestellt) oder zur Vorbereitung der Konditionierungsmischung dient, die die Effizienz der Clusterbildung bei der Sequenzierung erhöht.

Wenn Bibliotheken im Rahmen des NovaSeq Xp-Workflows direkt in die Fließzelle geladen werden, muss jedes Reagenzien-Kit durch ein NovaSeq Xp-Kit ergänzt werden. Jedes NovaSeq Xp-Kit enthält die folgenden Verbrauchsmaterialien.

**i** | Die DPX1- und DPX2-Verbrauchsmaterialien sind u. U. als JPX1 und JPX2 gekennzeichnet. Beide sind mit Reagenzien-Kits der Versionen 1.0 und 1.5 kompatibel. DPX3 ist außerdem mit den Reagenzien-Kits v1.0 und v1.5 kompatibel.

Tisch 10 Verbrauchsmaterialien in einem NovaSeq Xp-Kit

Verbrauchsmaterialien (je eins)	Zweck
DPX1/JPX1	Vorbereiten der ExAmp-Master-Mischung.
DPX2/JPX2	
DPX3	
NovaSeq Xp-Manifold	Laden von Bibliotheken auf die Fließzelle.

## Richtlinien für Wasser in Laborqualität

Bei Geräteverfahren sollte immer deionisiertes Wasser bzw. Wasser in Laborqualität verwendet werden. Niemals Leitungswasser verwenden. Verwenden Sie nur die folgenden Wasserarten oder Äquivalente:

- Deionisiertes Wasser
- Illumina PW1
- 18-Megohm(MΩ)-Wasser
- Milli-Q-Wasser
- Super-Q-Wasser
- Wasser in Molekularbiologie-Qualität

## Ausrüstung

Artikel	Quelle
Gefrierschrank, -25 °C bis -15 °C	Allgemeiner Laborlieferant
Messzylinder, 500 ml, steril	Allgemeiner Laborlieferant
Eiskübel	Allgemeiner Laborlieferant
Pipette, 20 µl	Allgemeiner Laborlieferant
Pipette, 200 µl	Allgemeiner Laborlieferant
Pipette, 1000 µl	Allgemeiner Laborlieferant
Kühlschrank, 2 bis 8 °C	Allgemeiner Laborlieferant
Wanne, Wasserbäder*	Allgemeiner Laborlieferant
[NovaSeq Xp-Workflow] NovaSeq Xp-Fließzellenstation	Illumina, Katalog-Nr. 20021663

\* Verwenden Sie eine Wanne, die zwei Reagenzienkartuschen und die erforderliche Wassermenge fassen kann.  
Beispiel: 61 x 91,4 x 25,4 cm

## Symbolbeschreibungen

Die folgende Tabelle beschreibt die Symbole auf dem Verbrauchsmaterial bzw. auf der Verbrauchsmaterialverpackung:

Symbol	Description (Beschreibung)
	Das Datum, an dem das Verbrauchsmaterial abläuft. Um optimale Ergebnisse zu erzielen, verwenden Sie die Verbrauchsmaterialien vor diesem Datum.

Symbol	Description (Beschreibung)
	Gibt den Hersteller an (Illumina).
	Die Verwendung ist ausschließlich für Forschungszwecke (RUO) vorgesehen.
	Gibt die Artikelnummer an, damit das Verbrauchsmaterial identifiziert werden kann. <sup>1</sup>
	Gibt den Chargencode an, um die Charge zu identifizieren, in der das Verbrauchsmaterial hergestellt wurde. <sup>1</sup>
	Gibt die Seriennummer an.
	Gibt an, dass ein Schutz vor Licht oder Wärme erforderlich ist. Vor Sonneneinstrahlung geschützt lagern.
	Weist auf eine Gesundheitsgefährdung hin.
	Stellt eine Gefahrenwarnung dar.
	Lagerungstemperaturbereich in Grad Celsius. Lagern Sie das Verbrauchsmaterial bei Temperaturen innerhalb des angegebenen Bereichs. <sup>2</sup>

<sup>1</sup> REF identifiziert die einzelne Komponente, während LOT das Los oder die Charge identifiziert, zu der die Komponente gehört.

<sup>2</sup> Die Lagerungstemperatur kann von der Transporttemperatur abweichen.

# Systemkonfiguration

Wenn Sie das System zum ersten Mal einschalten, wird NovaSeq Control Software gestartet. Mehrere Bildschirme werden nacheinander angezeigt und führen Sie durch die erste Einrichtung. Bei der ersten Einrichtung wird eine Systemprüfung durchgeführt, um die Geräteleistung zu überprüfen und die Systemeinstellungen zu konfigurieren.

Wählen Sie in der Steuerungssoftware den Befehl „System Settings“ (Systemeinstellungen), wenn Systemeinstellungen nach der ersten Einrichtung geändert werden sollen. Dieser Befehl öffnet die Registerkarten „Settings“ (Einstellungen), „Network Access“ (Netzwerkzugriff) und „Customization“ (Anpassung), auf denen Sie alle Einstellungen für die Steuerungssoftware und das Windows-Netzwerk vornehmen können.

## Betriebssystemkonten

Informationen zu Betriebssystemkonten und Kennwörtern finden Sie unter [Kennwortanforderungen auf Seite 91](#) und [Sicherheit und Netzwerk](#).

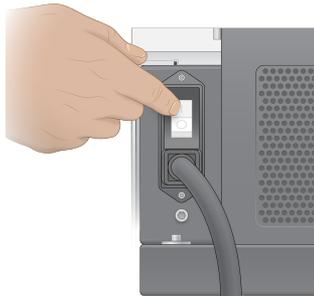
## Validierungsläufe

Vor der erstmaligen Sequenzierung von Versuchsbibliotheken können Sie einen Validierungslauf durchführen. Bei einem Validierungslauf wird PhiX 100 % sequenziert, das als Kontrollbibliothek zur Überprüfung der Gerätefunktionen fungiert. Anweisungen finden Sie unter [Sequenzierung auf Seite 55](#).

## Starten des Geräts

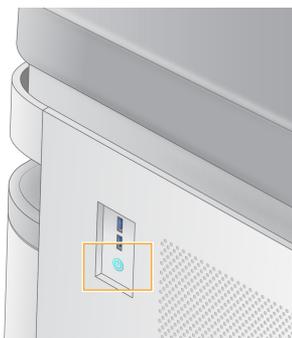
1. Drücken Sie auf die „Ein“-Seite (I) des Kippschalters auf der Rückseite des Geräts.

Abbildung 10 Position des Netzschalters



2. Warten Sie, bis die Ein/Aus-Taste auf der rechten Seite des Geräts blau leuchtet, und drücken Sie sie dann.

Abbildung 11 Position der Ein/Aus-Taste



## Benutzerkonten

Ab NVCS Version 1.5 gibt es zwei Arten von Konten: Administrator und User (Benutzer). Die folgende Tabelle führt die Berechtigungen für beide Arten auf.

Berechtigungen	Administrator	Benutzer
Konfigurieren, Starten und Überwachen von Sequenzierungsläufen	X	X
Herunterladen und Aktualisieren von Software	X	
Anzeigen des Status von aktiven Läufen, die von anderen Benutzern gestartet wurden	X	
Beenden nicht reagierender UCS-Prozesse	X	

Dateien mit Anwendungsdaten werden unter C:/ProgramData gespeichert. Anwendungen werden unter C:/Program Files installiert. NVCS wird bei beiden Kontoarten als Vollbild-App gestartet.

## Anmelden am System

1. Wurde das Betriebssystem geladen, melden Sie sich bei Windows mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort für Ihren Standort an.
2. Öffnen Sie NVCS.  
Die Software wird gestartet und initialisiert das System. Wenn die Initialisierung abgeschlossen ist, wird der Bildschirm „Home“ (Start) angezeigt. NVCS wird als Benutzer-App gestartet. Beim Versuch, Funktionen zu verwenden, für die Administratorberechtigungen erforderlich sind, beispielsweise „Software Update“ (Software-Aktualisierung), werden Sie ggf. aufgefordert, sich als Administrator anzumelden.

Bleiben Sie angemeldet, während NVCS ausgeführt und ein Lauf durchgeführt wird, um Informationen zum Fortschritt des Sequenzierungslaufs zu erhalten.

## Konfigurieren der Einstellungen

Die NVCS bietet Einstellungen für Folgendes:

- Laufmodus (manuell oder dateibasiert)
- NovaSeq Xp-Workflow
- Cloud-Hosting (BaseSpace Sequence Hub oder Illumina Connected Analytics)
- Software-Updates

**i** | Konfigurieren Sie die Modusauswahl, bevor Sie die Workflow-Auswahl oder die automatische Prüfung auf Software-Updates konfigurieren.

### Laufkonfigurationsmodi

- **Manual** (Manuell): Der Standardmodus, bei dem Daten an einen angegebenen Ausgabeordner für spätere Analysen gesendet werden.
- **File-Based** (Dateibasiert): Ein alternativer Modus, bei dem Dateien aus BaseSpace Clarity LIMS oder einem anderen LIMS-System zum Definieren von Laufparametern verwendet werden. Weitere Informationen hierzu finden Sie unter [Konfigurieren der LIMS-Ausgabe auf Seite 32](#).
- **Server-Based** (Serverbasiert): Ein Modus, der eine LIMS Server-URL verwendet, um Laufparameter zu definieren.

Beim Konfigurieren des Laufkonfigurationsmodus müssen Sie einen vorhandenen Speicherort für den Laufkonfigurationsordner angeben. Dieser Ordner ist erforderlich. Ein Meldung bezüglich der Ungültigkeit des Speicherorts weist darauf hin, dass der angegebene Speicherort nicht vorhanden ist.

Alle Laufkonfigurationsmodi beinhalten die Option, Daten an BaseSpace Sequence Hub oder Illumina Connected Analytics zur Datenspeicherung und -analyse zu senden.

### Konfigurieren des Modus „Manual“ (Manuell)

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **Settings** (Einstellungen).  
Der Bildschirm „Settings“ (Einstellungen) wird geöffnet und zeigt die Registerkarte „Mode Selection“ (Modusauswahl) an.
2. Wählen Sie **Manual** (Manuell).
3. **[Optional]** Geben Sie einen bevorzugten Netzwerkspeicherort für den Ausgabeordner ein oder navigieren Sie zu ihm hin.  
Geben Sie keinen Speicherort auf Laufwerk C, D oder Z an. Andernfalls wird eine Fehlermeldung bezüglich eines ungültigen Laufwerks ausgelöst.

Diese Einstellung ist der Standardspeicherort. Der Speicherort des Ausgabeordners kann je Lauf geändert werden.

4. **[Optional]** Wählen Sie **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Geräteleistungsdaten an Illumina senden), um den Überwachungsdienst Illumina Proactive zu aktivieren. Je nach verwendeter NVCS-Version kann der Name dieser Einstellung in der Benutzeroberfläche der Software von dem in diesem Handbuch abweichen.

Wenn diese Einstellung aktiviert ist, werden Geräteleistungsdaten an Illumina gesendet. Diese Daten erleichtern Illumina die Fehlerbehebung und das Erkennen möglicher Ausfälle. Sie ermöglichen eine proaktive Wartung und die Maximierung der Geräteverfügbarkeit. Weitere Informationen zu den Vorteilen dieses Dienstes finden Sie im *technischen Hinweis zu Illumina Proactive (Dokument-Nr. 1000000052503)*.

Dieser Dienst:

- Sendet keine Sequenzierungsdaten.
- Erfordert, dass das Gerät mit einem Netzwerk mit Internetzugang verbunden ist.
- Ist standardmäßig aktiviert. Wenn Sie den Dienst ausschalten möchten, deaktivieren Sie die Einstellung **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Geräteleistungsdaten an Illumina senden).

5. Wählen Sie **Save** (Speichern) aus.

## Konfigurieren des Modus „File-Based“ (Dateibasiert)

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **Settings** (Einstellungen).  
Der Bildschirm „Settings“ (Einstellungen) wird geöffnet und zeigt die Registerkarte „Mode Selection“ (Modusauswahl) an.
2. Wählen Sie **File-Based** (Dateibasiert).
3. Geben Sie einen bevorzugten Netzwerkspeicherort für den Laufkonfigurationsordner ein, der LIMS-Dateien enthält, oder navigieren Sie zum gewünschten Ordner.  
Stellen Sie sicher, dass die entsprechenden LIMS-Dateien zum Laufkonfigurationsordner hinzugefügt werden, bevor Sie einen Lauf konfigurieren. Bei der Laufkonfiguration ermittelt die Software anhand der ID des Bibliotheksrohrchens oder der Fließzelle die Dateien für den aktuellen Lauf.
4. **[Optional]** Geben Sie einen bevorzugten Netzwerkspeicherort für den Ausgabeordner ein oder navigieren Sie zu ihm hin.  
Geben Sie keinen Speicherort auf Laufwerk C, D oder Z an. Andernfalls wird eine Fehlermeldung bezüglich eines ungültigen Laufwerks ausgelöst.  
Der Speicherort des Ausgabeordners kann je Lauf geändert werden.
5. **[Optional]** Wählen Sie **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Geräteleistungsdaten an Illumina senden), um den Überwachungsdienst Illumina Proactive zu aktivieren. Je nach verwendeter NVCS-Version kann der Name dieser Einstellung in der Benutzeroberfläche der Software von dem in diesem Handbuch abweichen.

Wenn diese Einstellung aktiviert ist, werden Geräteleistungsdaten an Illumina gesendet. Diese Daten erleichtern Illumina die Fehlerbehebung und das Erkennen möglicher Ausfälle. Sie ermöglichen eine proaktive Wartung und die Maximierung der Geräteverfügbarkeit. Weitere Informationen zu den Vorteilen dieses Dienstes finden Sie im *technischen Hinweis zu Illumina Proactive (Dokument-Nr. 1000000052503)*.

Dieser Dienst:

- Sendet keine Sequenzierungsdaten.
- Erfordert, dass das Gerät mit einem Netzwerk mit Internetzugang verbunden ist.
- Ist standardmäßig aktiviert. Wenn Sie den Dienst ausschalten möchten, deaktivieren Sie die Einstellung **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Geräteleistungsdaten an Illumina senden).

Ist diese Option aktiviert, ist eine externe Internetverbindung erforderlich.

6. Wählen Sie **Save** (Speichern) aus.

## Konfigurieren der LIMS-Ausgabe

Wenn Ihr System für den dateibasierten Modus konfiguriert ist und Sie eine andere LIMS-Software als BaseSpace Clarity LIMS verwenden, konfigurieren Sie Ihr LIMS-System zum Generieren einer Laufkonfigurationsdatei im JSON-Format. Beim Standard-Workflow muss der Dateiname mit der ID des Bibliotheksröhrchens übereinstimmen. Das Feld für die Fließzellen-ID in der Datei kann leer bleiben. Beim NovaSeq Xp-Workflow muss der Dateiname der Fließzellen-ID entsprechen und die Fließzellen- sowie die Bibliotheks-ID müssen in der Datei angegeben werden. Die Groß-/Kleinschreibung muss bei Dateinamen und Werten nicht beachtet werden.

Externe LIMS-Software kann mithilfe der NovaSeq LIMS-API mit dem NovaSeq 6000 verknüpft werden. Wenden Sie sich an den technischen Support von Illumina, um weitere Informationen zu den API-Endpunkten oder dem serverbasierten LIMS-Modus zu erhalten.

Feldname	Wert
run_name	Der bevorzugte Laufname. Er kann alphanumerische Zeichen, Bindestriche und Unterstriche enthalten.
run_mode	Einer der folgenden Modi: <ul style="list-style-type: none"> <li>• S1</li> <li>• SP</li> <li>• S2</li> <li>• S4</li> </ul>
workflow_type	NoIndex, SingleIndex oder DualIndex.
librarytube_ID	Die RFID des Bibliotheksröhrchens.
sample_loading_type	NovaSeqStandard oder NovaSeq Xp

Feldname	Wert
Flowcell_ID	Die ID der Fließzelle
paired_end	True oder False.
read1	Ein Wert bis max. 251 (zusätzliche Zyklen aus UMI-Reads bis 259 möglich).
read2	Ein Wert bis max. 251 (zusätzliche Zyklen aus UMI-Reads bis 259 möglich).
index_read1	Beliebiger Wert.
index_read2	Beliebiger Wert.
output_folder	Der Pfad zum Ausgabeordner mit zwei umgekehrten Schrägstrichen als Escape-Sequenz.
Probenblatt	Der Pfad zu einem Probenblatt oder einer anderen Datei im CSV (*.csv)-Format mit zwei umgekehrten Schrägstrichen als Escape-Sequenz.
use_basespace	True oder False.
basespace_mode	RunMonitoringOnly oder RunMonitoringAndStorage.
use_custom_read1_primer	True oder False.
use_custom_read2_primer	True oder False.
use_custom_index_read1_primer	True oder False.
use_custom_index_read2_primer	True oder False.

\* Rehybridisierung ist unter NVCS v1.4.0 und früheren Versionen nicht verfügbar.

Beispiel: JSON-Datei mit dem Namen H6655DMXX.json:

```
{
  "run_name": "2x151_PhiX",
  "run_mode": "S2",
  "workflow_type": "NoIndex",
  "sample_loading_type": "NovaSeqOBEM",
  "librarytube_ID": "NV1236655-LIB",
  "flowcell_ID": "H6655DMXX",
  "paired_end": wahr,
  "read1": 151,
  "read2": 151,
  "index_read1": 0,
```

```
"index_read2": 0,  
"output_folder": "\\sgnt-prd-isi01\\NovaSEQ\\SeqRuns",  
"attachment": "\\sgnt-prd-isi01\\NVSQ\\SampleSheet.csv",  
"use_basespace": falsch,  
"basespace_mode": null,  
"use_custom_read1_primer": falsch,  
"use_custom_read2_primer": falsch,  
"use_custom_index_read1_primer": falsch  
}
```

## Konfigurieren der Standardanzahl der Indizierungszyklen

Die Standardanzahl der Indizierungszyklen für den Standard-Workflow lässt sich wie folgt konfigurieren.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **Settings** (Einstellungen).  
Der Bildschirm „Settings“ (Einstellungen) wird geöffnet und zeigt die Registerkarte „Mode Selection“ (Modusauswahl) an.
2. Wählen Sie die Registerkarte **Workflow Selection** (Workflow-Auswahl).
3. Geben Sie im Feld **Index Cycles** (Indizierungszyklen) die Standardanzahl der Indizierungszyklen an.
4. Wählen Sie **Save** (Speichern) aus.

## NovaSeq Standard- und NovaSeq Xp-Workflow

Sowohl beim NovaSeq Standard- als auch beim NovaSeq Xp-Workflow kommt Illumina-eigene ExAmp-Chemie zum Einsatz.

### Standard-Workflow

Der NovaSeq-Standard-Workflow automatisiert zwei entscheidende Schritte der Illumina-eigenen ExAmp-Clusterchemie im Gerät.

- Vorbereitung der ExAmp-Master-Mischung
- Weiterleitung der Master-Mischung auf die Fließzelle

Die Vorbereitung und Weiterleitung der Master-Mischung im Gerät minimiert den Aufwand für den Benutzer und erhöht die Einheitlichkeit der vorbereiteten Mischung.

Im Rahmen der Laufkonfiguration beim Standard-Workflow wird ein Bibliotheksröhrchen mit dem denaturierten und neutralisierten Bibliothekspool mit der empfohlenen Konzentration in Position 8 der Clusterkartusche eingesetzt. Weitere Informationen zur empfohlenen Ladekonzentration finden Sie im [Denaturierungs- und Verdünnungsprotokollgenerator](#). Nach der Laufinitialisierung erfolgen die weiteren

Schritte ohne Benutzereingriff im Gerät. Hierzu gehören der Transfer der ExAmp-Reagenzien aus der Clusterkartusche in das Bibliotheksröhrchen, die Vorbereitung der Mischung aus Reagenzien und Bibliothekspool sowie die Weiterleitung der vorbereiteten Mischung auf alle Lanes der Fließzelle.

Im Anschluss an die Clusterbildung im Gerät erfolgt eine Reihe von Schritten, die bei beiden Workflows gleich sind. Diese Schritte umfassen die Weiterleitung der Konditionierungsmischung auf die Cluster-Fließzelle sowie zusätzliche Chemieschritte zur Vorbereitung der Cluster für die Sequenzierung durch Synthese. Die Konditionierungsmischung wird während der Clusterbildung mithilfe der Reagenzien in der Clusterkartusche und im Bibliotheksröhrchen vorbereitet, das während der Laufkonfiguration eingesetzt wurde. Die Konditionierungsmischung steigert die Effizienz der Clusterbildung im NovaSeq 6000-Gerät.

## NovaSeq Xp Workflow

Mit dem NovaSeq Xp-Workflow ist das Laden unterschiedlicher Bibliotheken oder Bibliothekspools in einzelne Lanes der NovaSeq-Fließzelle möglich. Hierfür kommen die NovaSeq Xp-Fließzellenstation und ein Verbrauchsmaterialien-Kit für die entsprechende Fließzelle (NovaSeq Xp-2-Lane-Kit oder NovaSeq Xp-4-Lane-Kit) zum Einsatz. Das NovaSeq Xp-Kit enthält für das Clustering erforderliche NovaSeq Xp-Reagenzien sowie das NovaSeq Xp-Manifold zum Laden der Lanes.

Die ExAmp-Bibliothek-Mischung wird vorbereitet und mithilfe der NovaSeq Xp-Fließzellenstation und des NovaSeq Xp-Manifolds in einzelne Lanes auf der Fließzelle geladen. Die Vorbereitung der ExAmp-Bibliothek-Mischung und die Gabe in das Manifold kann zur Selbstfüllung der Fließzelle mithilfe eines automatischen Liquid Handlers erfolgen. Nachdem die Fließzelle vollständig beladen wurde, wird ein leeres Bibliotheksröhrchen in Position 8 der Clusterkartusche eingesetzt. Die Fließzelle wird im Gerät platziert und der Sequenzierungslauf wird gestartet.

Im Anschluss an die Initiierung des Laufs erfolgt eine Reihe von Schritten, die bei beiden Workflows gleich sind. Diese Schritte umfassen die Weiterleitung der Konditionierungsmischung auf die Cluster-Fließzelle sowie zusätzliche Chemieschritte zur Vorbereitung der Cluster für die Sequenzierung durch Synthese. Die Konditionierungsmischung wird während der Clusterbildung mithilfe der Reagenzien in der Clusterkartusche vorbereitet und im leeren Bibliotheksröhrchen gemischt, das während der Laufkonfiguration eingesetzt wurde. Die Konditionierungsmischung steigert die Effizienz der Clusterbildung im NovaSeq 6000 -Gerät.

## Konfigurieren des NovaSeq Xp-Workflows

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **Settings** (Einstellungen).  
Der Bildschirm „Settings“ (Einstellungen) wird geöffnet und zeigt die Registerkarte „Mode Selection“ (Modusauswahl) an.
2. Wählen Sie die Registerkarte **Workflow Selection** (Workflow-Auswahl).
3. Um den NovaSeq Xp-Workflow zu aktivieren, wählen Sie **Enable Workflow Selection** (Workflow-Auswahl aktivieren).
4. **[Optional]** Wählen Sie **NovaSeq Xp**, um NovaSeq Xp als Standard-Workflow festzulegen.
5. Wählen Sie **Save** (Speichern) aus.

## Konfigurieren der Cloud-Optionen

Befolgen Sie die folgenden Anweisungen, um die Standardeinstellungen für die Verbindung mit der Cloud zu konfigurieren. Während der Laufkonfiguration können Sie Cloud-Optionen für den aktuellen Lauf ausschalten oder die Einstellungen für Laufüberwachung und Speicherung ändern. Die Verbindung mit BaseSpace Sequence Hub oder Illumina Connected Analytics erfordert eine Internetverbindung.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **Settings** (Einstellungen).  
Der Bildschirm „Settings“ (Einstellungen) wird geöffnet und zeigt die Registerkarte „Mode Selection“ (Modusauswahl) an.
2. Aktivieren Sie das Kontrollkästchen **Illumina Cloud Options** (Cloud-Optionen).
3. Wählen Sie für „Configuration“ (Konfiguration) eine der folgenden Optionen:
  - **Run Monitoring and Storage** (Laufüberwachung und -speicherung ausführen): Sendet Ausführungsdaten zur Remote-Überwachung und Datenanalyse an die ausgewählte Cloud-Hosting-Option. Diese Option erfordert das Hochladen eines Probenblatts zusammen mit dem Lauf.
  - **Run Monitoring Only** (Nur Laufüberwachung): Sendet InterOp-, Protokoll- und andere Nicht-CBCL-Laufdateien an BaseSpace Sequence Hub, damit Läufe remote überwacht werden können.
4. Wählen Sie aus dem Dropdown-Menü „Hosting Location“ (Hosting-Standort) **EU (Frankfurt)** oder **USA (N. Virginia)** aus.  
Mit dieser Option wird festgelegt, wohin Daten hochgeladen werden.
5. Wenn Sie ein Enterprise-Abonnement für BaseSpace Sequence Hub oder Illumina Connected Analytics haben, gehen Sie wie folgt vor.
  - a. Aktivieren Sie das Kontrollkästchen für **Private Domain** (Private Domäne).
  - b. Geben Sie den Domännennamen ein, der für die einmalige Anmeldung bei BaseSpace Sequence Hub oder Illumina Connected Analytics verwendet wird.
6. Wählen Sie **Save** (Speichern) aus.

## Name des Probenblatts

Bei NVCS bis Version 1.3.1 muss das Probenblatt, das für einen Lauf verwendet und auf BaseSpace Sequence Hub hochgeladen wird, den Namen SampleSheet.csv erhalten, wobei die Groß-/Kleinschreibung beachtet werden muss. Wenn das Probenblatt einen falschen Namen erhält und die Laufüberwachung und Speicherung aktiviert ist, markiert BaseSpace Sequence Hub den Lauf. Ein markierter Lauf kann in die Warteschlange zur FASTQ-Generierung gestellt werden, indem **More > Fix Sample Sheet and Requeue** (Mehr > Probenblatt korrigieren und erneut in die Warteschlange stellen) gewählt und dann das entsprechende Probenblatt eingegeben wird. Bis das Probenblatt bereitgestellt wird, können Sequenzierungsdaten nicht in FASTQ-Dateien umgewandelt werden.

Ab NVCS Version 1.4 bestehen keine Einschränkungen hinsichtlich der Benennung des Probenblatts.

Wenn Sie zum lokalen Umwandeln von Daten in FASTQ-Dateien bcl2fastq2 Conversion Software ab Version 2.19 verwenden, können Sie über die Befehlszeilenoption `--sample-sheet` eine beliebige CSV-Datei an einer beliebigen Position angeben. Die Befehlszeile lässt die Verwendung eines beliebigen Dateinamens zu.

## Konfigurieren von Software-Updates

Die automatische Suche nach Software-Updates ist standardmäßig aktiviert. Über „Settings“ (Einstellungen) können Sie die automatische Suche nach Updates deaktivieren oder aktivieren.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **Settings** (Einstellungen).
2. Wählen Sie **Software Update** (Software-Update).
3. Aktivieren Sie das Kontrollkästchen **If enabled, the instrument will display a notification when a Software Update is available** (Bei Aktivierung zeigt das Gerät eine Benachrichtigung an, sobald ein Software-Update verfügbar ist).
4. Wählen Sie **Save** (Speichern) aus.

# Standard-Workflow: Vorbereiten von Verbrauchsmaterialien

## Best Practices

- Stellen Sie sicher, dass die erforderlichen Verbrauchsmaterialien und die erforderliche Ausstattung vorhanden sind. Informationen hierzu finden Sie unter [Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien und Ausstattung auf Seite 22](#).
- Prüfen Sie immer das Etikett, wenn Sie Verbrauchsmaterialien vorbereiten, um die Kompatibilität zwischen den Komponenten sicherzustellen. SP, S1-, S2- und S4-Komponenten dürfen nicht gemeinsam verwendet werden.
- Verwenden Sie nicht unterschiedliche Reagenzien-Kit-Versionen gemeinsam.
  - SBS- & CPE-Kartuschen der Version 1.0 dürfen nur in gleichen Paaren verwendet werden.
  - SBS- & CPE-Kartuschen der Version 1.5 dürfen nur in gleichen Paaren verwendet werden.
- Wenn Sie die SBS-Kartusche aus der Verpackung nehmen, überprüfen Sie sie visuell auf Risse.
- Gehen Sie gemäß den Anweisungen in der angezeigten Reihenfolge vor. Halten Sie dabei die angegebenen Volumina, Konzentrationen, Temperaturen und Zeiten ein.
- Fahren Sie unmittelbar mit dem nächsten Schritt fort. Dies gilt nicht, wenn ein Haltepunkt in den Anweisungen angegeben ist.

## Auftauen von SBS- und Clusterkartuschen

1. Stellen Sie, wenn ein Sequenzierlauf durchgeführt wird, sicher, dass beide Geräteseiten verfügbar sind, wenn die Kartuschen aufgetaut sind.
2. Nehmen Sie die SBS- und Clusterkartuschen aus der Aufbewahrung bei -25 °C bis -15 °C.

3. Setzen Sie die einzelnen Kartuschen jeweils in ein Drahtauftau-Rack. Die Racks sind im Lieferumfang des Geräts enthalten und verhindern, dass die Kartuschen im Wasserbad umkippen.

Abbildung 12 Kartuschen in Drahtauftau-Racks



4. Tauen Sie die Kartuschen in einem Wasserbad mit Raumtemperatur (19 °C bis 25 °C) auf. Die Kartuschen müssen dabei ungefähr zur Hälfte unter Wasser sein.
5. Die Auftauzeit können Sie anhand der folgenden Tabelle bestimmen.

**!** Wenn Reagenzien mit heißem Wasser aufgetaut werden, kann dies die Datenqualität beeinträchtigen und dazu führen, dass ein Lauf fehlschlägt.

Kartusche	Auftauzeit
SP-, S1- und S2-SBS-Kartusche	4 Stunden
SP-, S1- und S2-Clusterkartusche	Bis zu 2 Stunden
S4-SBS-Kartusche	4 Stunden
S4-Clusterkartusche	Bis zu 4 Stunden

6. Trocknen Sie die Unterseiten der Kartuschen mit Papierhandtüchern gründlich ab. Trocknen Sie die Well-Zwischenräume ab, sodass das gesamte Wasser entfernt ist.
7. Überprüfen Sie die Verschlussfolien auf Spuren von Wasser. Wenn Wasser zu sehen ist, tupfen Sie die Folie mit einem fusselfreien Tuch trocken.
8. Überprüfen Sie jeweils die Unterseite der einzelnen Kartuschen, um sicherzustellen, dass die Behälter frei von Eis sind. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Reagenzien aufgetaut sind.
9. Invertieren Sie die einzelnen Kartuschen 10 Mal, um die Reagenzien zu mischen.
10. Klopfen Sie die Unterseite der einzelnen Kartuschen leicht auf den Tisch, um die Anzahl von Luftblasen zu verringern.
11. Wenn die Reagenzien nicht innerhalb von 4 Stunden in das Gerät geladen werden können, lagern Sie sie für bis zu 24 Stunden bei 2 °C bis 8 °C oder erneut bei -25 °C bis -15 °C. Nach dem Auftauen nicht mehr als einmal erneut einfrieren.

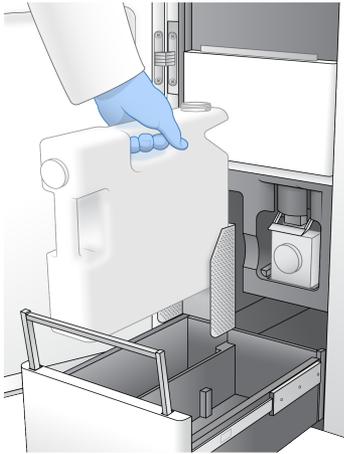
## Leeren der Flaschen für benutzte Reagenzien

Leeren Sie bei *jedem* Sequenzierungslauf die Flaschen für benutzte Reagenzien wie nachfolgend beschrieben. Die große Flasche muss eingesetzt sein.

**!** Diese Reagenzien enthalten potenziell gesundheitsschädliche Chemikalien. Personen können sich durch Einatmen, Verschlucken oder durch Kontakt mit der Haut oder den Augen verletzen. Die Belüftung sollte für den Umgang mit gefährlichen Materialien in Reagenzien geeignet sein. Tragen Sie eine dem Expositionsrisiko entsprechende Schutzausrüstung, insbesondere Schutzbrille, Handschuhe und Laborkittel. Verbrauchte Reagenzien sind als chemische Abfälle zu behandeln. Entsorgen Sie sie daher gemäß den geltenden regionalen, nationalen und lokalen Gesetzen und Vorschriften. Zusätzliche umwelt-, gesundheits- und sicherheitsbezogene Informationen finden Sie in den Sicherheitsdatenblättern (SDS) unter [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

1. Entfernen und leeren Sie die kleine Flasche für benutzte Reagenzien wie nachfolgend beschrieben.
  - a. Ziehen Sie den Hebel nach oben und entfernen Sie die kleine Flasche für benutzte Reagenzien aus der Nische. Fassen Sie die Flasche an den Seiten.
  - b. Entfernen Sie die Schraubkappe von der Kappenhalterung an der Vorderseite der Flasche.
  - c. Verschließen Sie die Flaschenöffnung mit der Kappe, damit nichts verschüttet werden kann.
  - d. Halten Sie den Inhalt vom Inhalt der anderen Flasche getrennt und entsorgen Sie ihn gemäß den in Ihrer Region geltenden Vorschriften.
  - e. Platzieren Sie die Flasche ohne Kappe in der Nische und bewegen Sie dann den Hebel nach unten. Bewahren Sie die Kappe auf der Kappenhalterung auf.
2. Entfernen und leeren Sie die große Flasche für benutzte Reagenzien wie nachfolgend beschrieben.
  - a. Verwenden Sie den oberen Griff, um die große Flasche für benutzte Reagenzien links in der Pufferschublade zu entfernen.
  - b. Entfernen Sie die Schraubkappe von der Kappenhalterung an der Vorderseite der Flasche.
  - c. Verschließen Sie die Flaschenöffnung mit der Kappe, damit nichts verschüttet werden kann.
  - d. Entsorgen Sie den Inhalt der Flasche gemäß den in Ihrer Region geltenden Vorschriften. Halten Sie beim Entleeren beide Griffe fest.
  - e. Positionieren Sie die Flasche ohne Kappe wieder in der Pufferschublade. Bewahren Sie die Kappe auf der Kappenhalterung auf.

Abbildung 13 Zurückstellen der leeren Flasche



3. Ziehen Sie ein neues Paar ungepuderter Handschuhe an.
4. Schließen Sie die Pufferschublade und anschließend die Flüssigkeitskammertüren.

! | Werden die Flaschen für benutzte Reagenzien nicht geleert, kann dies den Abbruch eines Laufs und das Austreten von Reagenzien zur Folge haben. Letzteres kann das Gerät beschädigen und stellt ein Sicherheitsrisiko dar.

## Vorbereiten der Fließzelle

1. Nehmen Sie ein neues Fließzellenpaket aus dem Lagerort mit einer Temperatur von 2 °C bis 8 °C.
2. Legen Sie das Fließzellenpaket bei Raumtemperatur für 10–15 Minuten beiseite.  
Verwenden Sie die Fließzelle nach dem Entnehmen aus der Verpackung innerhalb von 12 Stunden.

## Poolen und Denaturieren von Bibliotheken für die Sequenzierung

Die Ladekonzentration variiert abhängig von der Methode für Bibliotheksvorbereitung, Quantifizierung und Normalisierung. Für Anweisungen siehe [Denaturierungs- und Verdünnungsprotokollgenerator](#). Fahren Sie mit [Vorbereiten von SBS- und Clusterkartuschen auf Seite 42](#) fort, sobald die gepoolte Bibliothek bereit ist.

! | Lagern Sie das Bibliotheksröhrchen nur, wenn unbedingt erforderlich. Die Lagerung über einen längeren Zeitraum bei -25 °C bis -15 °C kann zu mehr Duplikaten führen, wodurch die Ergiebigkeit verringert wird.

## Vorbereiten von SBS- und Clusterkartuschen

1. Überprüfen Sie jeweils die Unterseite der einzelnen Kartuschen, um sicherzustellen, dass die Behälter frei von Eis sind. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Reagenzien aufgetaut sind.
2. Invertieren Sie die einzelnen Kartuschen 10 Mal, um die Reagenzien zu mischen.
3. Klopfen Sie die Unterseite der einzelnen Kartuschen leicht auf den Tisch, um die Anzahl von Luftblasen zu verringern.

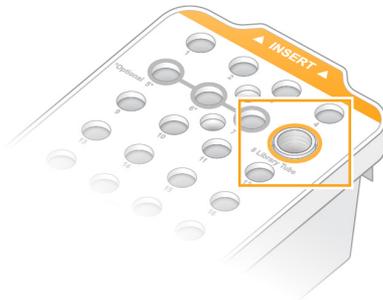
## Vorbereiten benutzerdefinierter Primer

Wenn die Bibliothek anwendungsspezifische Primer erfordert, bereiten Sie diese wie im *Handbuch für anwendungsspezifische Primer für die NovaSeq Series (Dokument-Nr. 1000000022266)* angegeben vor.

## Laden von Bibliotheksröhrchen

1. Setzen Sie das Bibliotheksröhrchen mit dem denaturierten und verdünnten Bibliothekspool ohne Kappe in Position „**Library Tube**“ (Bibliotheksröhrchen) (Nr. 8) der Clusterkartusche, ohne dabei die Bibliothek am Boden des Röhrchens aufzurütteln.
2. Setzen Sie das leere Bibliotheksröhrchen ohne Kappe in Position 8 der Clusterkartusche ein.

Abbildung 14 In Position 8 geladenes Bibliotheksröhrchen ohne Kappe



# NovaSeq Xp-Workflow: Vorbereiten von Verbrauchsmaterialien

## Zusammenfassung des NovaSeq Xp-Workflows

Stellen Sie sicher, dass die NVCS-Version die in der folgenden Tabelle aufgeführten Software-Mindestanforderungen erfüllt, bevor Sie die Proben oder Verbrauchsmaterialien vorbereiten.

Tisch 11 Software-Mindestanforderungen

Fließzelle	Für Reagenzien-Kits der Version 1.0 mindestens erforderliche Softwareversion	Für Reagenzien-Kits der Version 1.5 mindestens erforderliche Softwareversion
SP	1,6	1,7
S1	1.3.1	1,7
S2	Alle	1,7
S4	1.2.0	1,7

**i** | Die NVCS unterstützt den gestaffelten Start neuer Läufe. Siehe [Gestaffelter Start von Läufen auf Seite 65](#).

Stellen Sie sicher, dass alle Schritte des NovaSeq Xp-Workflows in der angegebenen Reihenfolge durchgeführt werden.

**i** | Die Schritte 1 bis 4 können parallel erfolgen und müssen vor Schritt 5 durchgeführt werden.

1. Tauen Sie die SBS- und Clusterkartuschen auf.
2. Leeren Sie die Flaschen für benutzte Reagenzien.
3. Legen Sie die versiegelte Fließzellenverpackung 10–15 Minuten beiseite, bis die Fließzelle Raumtemperatur erreicht hat. Verwenden Sie die Fließzelle nach dem Entnehmen aus der Verpackung innerhalb von 12 Stunden.
4. Normalisieren und poolen Sie Bibliotheken und geben Sie wahlweise PhiX-Kontrolle gemäß dem entsprechenden, im [Denaturierungs- und Verdünnungsprotokollgenerator](#) aufgeführten Protokoll für die Bibliotheken hinzu.

**i** | Führen Sie die Schritte 5 bis 11 in der angegebenen Reihenfolge durch.

5. Tauen Sie die ExAmp-Reagenzien auf.

6. Bereiten Sie eine frische NaOH-Verdünnung gemäß dem [Denaturierungs- und Verdünnungsprotokollgenerator](#) vor.
7. Denaturieren und neutralisieren Sie den Bibliothekspool gemäß dem [Denaturierungs- und Verdünnungsprotokollgenerator](#).
8. Bereiten Sie die Fließzelle und die Station vor.
9. Bereiten Sie die ExAmp-Master-Mischung vor.
10. Laden Sie die ExAmp-Bibliothek-Mischung auf die Fließzelle.
11. Laden Sie ein leeres Bibliotheksröhrchen in Position 8 der Clusterkartusche.

## Methoden

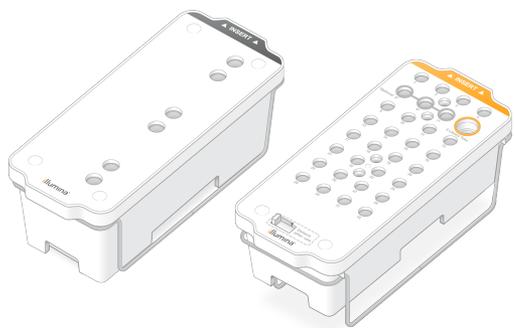
- Stellen Sie sicher, dass die erforderlichen Verbrauchsmaterialien und die erforderliche Ausstattung vorhanden sind. Informationen hierzu finden Sie unter [Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien und Ausstattung auf Seite 22](#).
- Stellen Sie sicher, dass das Gerät eingeschaltet ist und über ausreichend Speicherplatz für den Lauf verfügt. Siehe [Prozessmanagement auf Seite 11](#).
- Stellen Sie sicher, dass die automatische Nachwaschung auf beiden Seiten des Geräts abgeschlossen wurde, bevor Sie mit dem Schritt [Auftauen der ExAmp-Reagenzien der Zusammenfassung des NovaSeq Xp-Workflows auf Seite 43](#) beginnen.
- Prüfen Sie immer das Etikett, wenn Sie Verbrauchsmaterialien vorbereiten, um die Kompatibilität zwischen den Komponenten sicherzustellen. Verwenden Sie SP-, S1-, S2- und S4-Komponenten oder Zwei- und Vier-Lane-Komponenten nicht gleichzeitig auf derselben Geräteseite.
- Verwenden Sie nicht unterschiedliche Reagenzien-Kit-Versionen gemeinsam.
  - SBS- & CPE-Kartuschen der Version 1.0 dürfen nur in gleichen Paaren verwendet werden.
  - SBS- & CPE-Kartuschen der Version 1.5 dürfen nur in gleichen Paaren verwendet werden.
- Wenn Sie die SBS-Kartusche aus der Verpackung nehmen, überprüfen Sie sie visuell auf Risse.
- Gehen Sie gemäß den Anweisungen in der angezeigten Reihenfolge vor. Halten Sie sich dabei an die angegebenen Volumina, Temperaturen und Zeiten.
- Lagern Sie alle Reagenzien und Bibliotheken auf Eis, wenn diese nicht aktiv gemischt werden.
- Fahren Sie unmittelbar mit dem nächsten Schritt fort. Dies gilt nicht, wenn ein Haltepunkt in den Anweisungen angegeben ist.
- Zum erfolgreichen Start einer Sequenzierung für eine Fließzelle mit zwei Lanes müssen beide Lanes gefüllt sein. Der erfolgreiche Start einer Sequenzierung für eine Fließzelle mit vier Lanes ist auch dann möglich, wenn eine Lane nicht vollständig gefüllt oder leer ist.
- Wenn die ExAmp-Reagenzien manuell gemischt werden, sind die häufigsten Ursachen für abweichende Ergebnisse die Zugabe falscher Volumen der ExAmp-Komponenten oder unzureichendes Mischen. Die Komponenten müssen gründlich gemischt werden.

- i** | Starten Sie den Sequenzierungslauf unmittelbar nach dem Laden der Bibliotheken auf die Fließzelle, vorzugsweise innerhalb von 30 Minuten.

## Auftauen von SBS- und Clusterkartuschen

1. Stellen Sie, wenn ein Sequenzierungslauf durchgeführt wird, sicher, dass beide Geräteseiten verfügbar sind, wenn die Kartuschen aufgetaut sind.
2. Nehmen Sie die SBS- und Clusterkartuschen aus der Aufbewahrung bei  $-25\text{ °C}$  bis  $-15\text{ °C}$ .
3. Setzen Sie die einzelnen Kartuschen jeweils in ein Drahtauftau-Rack. Die Racks sind im Lieferumfang des Geräts enthalten und verhindern, dass die Kartuschen im Wasserbad umkippen.

Abbildung 15 Kartuschen in Drahtauftau-Racks



4. Tauen Sie die Kartuschen in einem Wasserbad mit Raumtemperatur ( $19\text{ °C}$  bis  $25\text{ °C}$ ) auf. Die Kartuschen müssen dabei ungefähr zur Hälfte unter Wasser sein.
5. Die Auftauzeit können Sie anhand der folgenden Tabelle bestimmen.

- !** | Wenn Reagenzien mit heißem Wasser aufgetaut werden, kann dies die Datenqualität beeinträchtigen und dazu führen, dass ein Lauf fehlschlägt.

Kartusche	Auftauzeit
SP-, S1- und S2-SBS-Kartusche	4 Stunden
SP-, S1- und S2-Clusterkartusche	Bis zu 2 Stunden
S4-SBS-Kartusche	4 Stunden
S4-Clusterkartusche	Bis zu 4 Stunden

6. Trocknen Sie die Unterseiten der Kartuschen mit Papierhandtüchern gründlich ab. Trocknen Sie die Well-Zwischenräume ab, sodass das gesamte Wasser entfernt ist.
7. Überprüfen Sie die Verschlussfolien auf Spuren von Wasser. Wenn Wasser zu sehen ist, tupfen Sie die Folie mit einem fusselfreien Tuch trocken.
8. Überprüfen Sie jeweils die Unterseite der einzelnen Kartuschen, um sicherzustellen, dass die Behälter frei von Eis sind. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Reagenzien aufgetaut sind.

9. Invertieren Sie die einzelnen Kartuschen 10 Mal, um die Reagenzien zu mischen.
10. Klopfen Sie die Unterseite der einzelnen Kartuschen leicht auf den Tisch, um die Anzahl von Luftblasen zu verringern.
11. Wenn die Reagenzien nicht innerhalb von 4 Stunden in das Gerät geladen werden können, lagern Sie sie für bis zu 24 Stunden bei 2 °C bis 8 °C oder erneut bei -25 °C bis -15 °C. Nach dem Auftauen nicht mehr als einmal erneut einfrieren.

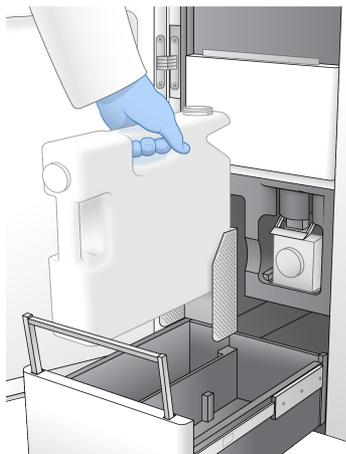
## Leeren der Flaschen für benutzte Reagenzien

Leeren Sie bei *jedem* Sequenzierungslauf die Flaschen für benutzte Reagenzien wie nachfolgend beschrieben. Die große Flasche muss eingesetzt sein.

**!** | Diese Reagenzien enthalten potenziell gesundheitsschädliche Chemikalien. Personen können sich durch Einatmen, Verschlucken oder durch Kontakt mit der Haut oder den Augen verletzen. Die Belüftung sollte für den Umgang mit gefährlichen Materialien in Reagenzien geeignet sein. Tragen Sie eine dem Expositionsrisiko entsprechende Schutzausrüstung, insbesondere Schutzbrille, Handschuhe und Laborkittel. Verbrauchte Reagenzien sind als chemische Abfälle zu behandeln. Entsorgen Sie sie daher gemäß den geltenden regionalen, nationalen und lokalen Gesetzen und Vorschriften. Zusätzliche umwelt-, gesundheits- und sicherheitsbezogene Informationen finden Sie in den Sicherheitsdatenblättern (SDS) unter [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

1. Entfernen und leeren Sie die kleine Flasche für benutzte Reagenzien wie nachfolgend beschrieben.
  - a. Ziehen Sie den Hebel nach oben und entfernen Sie die kleine Flasche für benutzte Reagenzien aus der Nische. Fassen Sie die Flasche an den Seiten.
  - b. Entfernen Sie die Schraubkappe von der Kappenhalterung an der Vorderseite der Flasche.
  - c. Verschließen Sie die Flaschenöffnung mit der Kappe, damit nichts verschüttet werden kann.
  - d. Halten Sie den Inhalt vom Inhalt der anderen Flasche getrennt und entsorgen Sie ihn gemäß den in Ihrer Region geltenden Vorschriften.
  - e. Platzieren Sie die Flasche ohne Kappe in der Nische und bewegen Sie dann den Hebel nach unten. Bewahren Sie die Kappe auf der Kappenhalterung auf.
2. Entfernen und leeren Sie die große Flasche für benutzte Reagenzien wie nachfolgend beschrieben.
  - a. Verwenden Sie den oberen Griff, um die große Flasche für benutzte Reagenzien links in der Pufferschublade zu entfernen.
  - b. Entfernen Sie die Schraubkappe von der Kappenhalterung an der Vorderseite der Flasche.
  - c. Verschließen Sie die Flaschenöffnung mit der Kappe, damit nichts verschüttet werden kann.
  - d. Entsorgen Sie den Inhalt der Flasche gemäß den in Ihrer Region geltenden Vorschriften. Halten Sie beim Entleeren beide Griffe fest.
  - e. Positionieren Sie die Flasche ohne Kappe wieder in der Pufferschublade. Bewahren Sie die Kappe auf der Kappenhalterung auf.

Abbildung 16 Zurückstellen der leeren Flasche



3. Ziehen Sie ein neues Paar ungepudertes Handschuhe an.
4. Schließen Sie die Pufferschublade und anschließend die Flüssigkeitskammertüren.

**!** Werden die Flaschen für benutzte Reagenzien nicht geleert, kann dies den Abbruch eines Laufs und das Austreten von Reagenzien zur Folge haben. Letzteres kann das Gerät beschädigen und stellt ein Sicherheitsrisiko dar.

## Vorbereiten von Fließzelle und Station

1. Nehmen Sie ein neues Fließzellenpaket aus dem Lagerort mit einer Temperatur von 2 °C bis 8 °C.
2. Legen Sie das Fließzellenpaket bei Raumtemperatur für 10–15 Minuten beiseite.  
Verwenden Sie die Fließzelle nach dem Entnehmen aus der Verpackung innerhalb von 12 Stunden.
3. Platzieren Sie die Fließzellenstation auf einer glatten Oberfläche.
4. Überprüfen Sie die Station und stellen Sie sicher, dass diese keine Verunreinigungen aufweist.

## Auftauen von ExAmp-Reagenzien

1. Entnehmen Sie jeweils ein Röhrchen DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 und DPX3 aus der Lagerung bei -25 °C bis -15 °C.
2. 10 Minuten lang bei Raumtemperatur auftauen lassen.
3. Lagern Sie sie auf Eis.

**i** Falls ungeöffnete ExAmp-Reagenzien wieder eingefroren werden müssen, sollte dies unmittelbar nach dem Auftauen geschehen. ExAmp-Reagenzien dürfen nur einmal wieder eingefroren werden. Restreagenzien dürfen nicht wieder eingefroren oder kombiniert werden.

## Vakuumdruck der Fließzelle überprüfen

Überprüfen Sie das Fließzellenvakuum wie folgt.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **Tools** (Werkzeuge).
2. Wählen Sie **Flow Cell Vacuum** (Fließzellenvakuum).
3. Wählen Sie die zutreffende Seite(n) aus, auf die die Fließzelle(n) geladen werden soll(en) (Seite A, Seite B oder beide).
4. Wählen Sie **Open** (Öffnen).

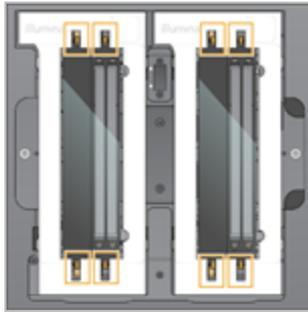
**i** | Der Vakuumdruckzustand zeigt sowohl auf Seite A als auch auf Seite B **Fail** (Nicht bestanden) an, wenn das Vakuumwerkzeug der Fließzelle zum ersten Mal geöffnet wird. Dies ist normal, wenn keine Fließzelle vorhanden ist oder wenn eine Fließzelle vor dem Vakuumtool der Fließzelle geladen wird.

5. Nehmen Sie eine neue Fließzellenverpackung aus dem Lager mit 2 °C bis 8 °C und tauen Sie sie bei Raumtemperatur 10–15 Minuten auf.
6. Nehmen Sie die Fließzelle so aus der Verpackung.
  - a. Ziehen Sie ein neues Paar ungepudertes Handschuhe an, um eine Kontaminierung der Glasoberfläche der Fließzelle zu vermeiden.
  - b. Halten Sie die Verpackung über eine glatte Oberfläche und reißen Sie die Folie von der Eckflasche aus auf.
  - c. Entfernen Sie die durchsichtige Kunststoffhalterung von der Fließzelle.
  - d. Nehmen Sie die Fließzelle aus der Verpackung. Halten Sie die Fließzelle an den Seiten, um das Glas oder die Dichtungen an der Unterseite nicht zu berühren.
  - e. Wenn Partikel auf einer der Glasoberflächen sichtbar sind, reinigen Sie die jeweilige Oberfläche mit einem fusselfreien Alkoholtupfer und trocknen Sie sie mit einem fusselfreien Labortuch.
  - f. Entsorgen Sie die Verpackung ordnungsgemäß.

**i** | Einige Kratzer und andere kleinere kosmetische Mängel auf der Fließzelle sind normal und lassen keine Beeinträchtigung der Datenqualität erwarten. Illumina empfiehlt, solche Fließzellen wie gewohnt zu verwenden.

7. Richten Sie die Fließzelle über den vier hervorstehenden Klemmen aus und platzieren Sie sie auf dem Fließzellentisch.

Abbildung 17 Über den Klemmen ausgerichtete geladene Fließzellen



8. Wählen Sie **Close** (Schließen).  
Die Fließzellentür schließt, der RFID- und Vakuumdruck werden überprüft und der Fließzellendeskriptor, die Fließzellen-ID und der Vakuumdruckzustand der Fließzellen erscheinen auf dem Bildschirm.
9. Wenn der Vakuumdruckzustand der Fließzelle als „Bestanden“ angezeigt wird, wählen Sie **Open** (Öffnen), um die Fließzellentür zu öffnen, und fahren Sie mit [Fließzelle auf die Station laden auf Seite 50](#) fort.  
Wenn der Vakuumdruckzustand der Fließzelle als „Nicht bestanden“ angezeigt wird:
  - a. Wählen Sie **Open** (Öffnen), um die Tür der Fließzelle zu öffnen.
  - b. Entfernen Sie die Fließzelle vom Tisch. Halten Sie die Fließzelle an den Seiten, um das Glas oder die Dichtungen an der Unterseite nicht zu berühren.
  - c. Prüfen Sie, ob sowohl die Fließzelle als auch der Fließzellentisch frei von Partikeln sind. Reinigen Sie die entsprechende Oberfläche gegebenenfalls mit einem fusselfreien Alkoholtuch und trocknen Sie sie mit einem fusselfreien Laborgewebe.
  - d. Laden Sie die Fließzelle neu, indem Sie die Fließzelle über den vier hervorstehenden Klemmen ausrichten und sie auf dem Fließzellentisch platzieren.
  - e. Wählen Sie **Close** (Schließen), um die Fließzellentür zu schließen.
  - f. Wenn der Vakuumdruck der Fließzelle weiterhin nicht besteht, wenden Sie sich an den technischen Support von Illumina.

## Poolen, Denaturieren und Laden von Bibliotheken für die Sequenzierung

Die Ladekonzentration variiert abhängig von der Methode für Bibliotheksvorbereitung, Quantifizierung und Normalisierung. Für Anweisungen siehe [Denaturierungs- und Verdünnungsprotokollgenerator](#). Fahren Sie mit [Fließzelle auf die Station laden auf Seite 50](#) fort, sobald die gepoolte Bibliothek bereit ist.

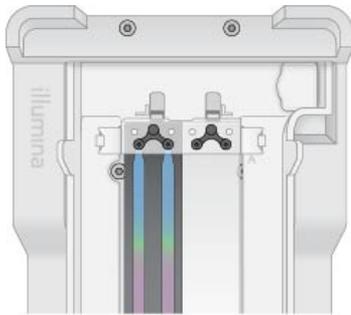
## Fließzelle auf die Station laden

1. Nehmen Sie die Fließzelle aus der Verpackung. Halten Sie die Fließzelle an den Seiten, um das Glas oder die Dichtungen an der Unterseite nicht zu berühren.
2. Wenn Partikel auf einer der Glasoberflächen sichtbar sind, reinigen Sie die jeweilige Oberfläche mit einem fusselfreien Alkoholtupfer und trocknen Sie sie mit einem fusselfreien Labortuch.
3. Entsorgen Sie die Verpackung ordnungsgemäß.

**i** | Einige Kratzer und andere kleinere kosmetische Mängel auf der Fließzelle sind normal und lassen keine Beeinträchtigung der Datenqualität erwarten. Illumina empfiehlt die normale Verwendung dieser Fließzellen.

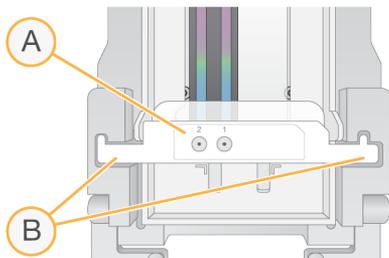
4. Drehen Sie die Fließzelle um, sodass die obere Oberfläche nach *unten* weist.
5. Schieben Sie die Auslassseite der Fließzelle unter den Halterungsbügel und setzen Sie die Fließzelle auf die Station. Siehe [Fließzelle auf Seite 17](#) und [NovaSeq Xp-Fließzellenstation auf Seite 21](#).

Abbildung 18 Platzierung der Fließzelle



6. Platzieren Sie das NovaSeq Xp-Manifold mit den Wells nach oben über der Einlassseite der Fließzelle. Stellen Sie sicher, dass die Arme des NovaSeq Xp-Manifolds sicher in den Aussparungen der Station sitzen.

Abbildung 19 Platzierung des NovaSeq Xp-Manifolds



- A. NovaSeq Xp-Manifold mit den Wells nach oben
- B. Arme des NovaSeq Xp-Manifold in den Aussparungen der Station

7. Schließen Sie die Sicherungsklemme, um die Fließzelle und das NovaSeq Xp-Manifold zu arretieren und die Dichtungen zu versiegeln.

8. Entsorgen Sie das NovaSeq Xp-Manifold, nachdem die Bibliothekspools auf die Fließzelle geladen wurden.

Das NovaSeq Xp-Manifold ist nur zum Einmalgebrauch vorgesehen.

## Vorbereiten der ExAmp-Master-Mischung

Verwenden Sie bei der Vorbereitung der ExAmp-Master-Mischung ein Mikrozentrifugenröhrchen mit mindestens dem doppelten des erforderlichen Volumens:

- Verwenden Sie für eine Fließzelle mit zwei Lanes ein 0,5-ml- oder ein 1,7-ml-Röhrchen.
- Verwenden Sie für eine Fließzelle mit vier Lanes ein 1,7-ml-Röhrchen.

Wenn die ExAmp-Reagenzien manuell gemischt werden, sind die Zugabe falscher Volumen oder unzureichendes Mischen die häufigsten Ursachen für abweichende Ergebnisse. Die Komponenten müssen gründlich gemischt werden.

**i** | Die DPX1- und DPX2-Verbrauchsmaterialien sind u. U. als JPX1 und JPX2 gekennzeichnet. Beide sind mit Reagenzien-Kits der Versionen 1.0 und 1.5 kompatibel.

1. Invertieren Sie DPX1/JPX1 und DPX2/JPX2 zum Mischen oder geben Sie die Komponenten kurz in einen Vortexer.
2. Geben Sie DPX3 zum Mischen kurz in einen Vortexer.  
ExAmp-Reagenzien können sich während der Lagerung separieren. Die Komponenten sind viskos, insbesondere DPX2/JPX2 und DPX3. Aufgrund der Viskosität lässt sich DPX3 nur schwer durch Invertieren mischen.
3. Zentrifugieren Sie DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 und DPX3 kurz.
4. Kombinieren Sie die folgenden Volumina in der angegebenen Reihenfolge in einem geeigneten Mikrozentrifugenröhrchen.

Zugabereihenfolge	Reagenz*	Volumen für eine Fließzelle mit zwei Lanes (SP/S1/S2) (µl)	Volumen für eine Fließzelle mit vier Lanes (S4) (µl)
1	DPX1/JPX1	126	315
2	DPX2/JPX2	18	45
3	DPX3	66	165

\*Die Kappen der Röhrchen der DPX-/JPX-Reagenzien sind u. U. farbcodiert (rot, gelb bzw. blau für DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 bzw. DPX3). Stellen Sie sicher, dass beim Wiederaufsetzen der Kappen die korrekte Farbcodierung beibehalten wird.

Diese Volumina ergeben 210 µl ExAmp-Master-Mischung für die Modi SP, S1 oder S2 bzw. 525 µl Master-Mischung für den S4-Modus. Diese Volumina sind ausreichend für den jeweiligen Modus. Das zusätzliche Volumen dient zum Ausgleich von Pipettierfehlern beim Laden der Bibliotheken auf die Fließzelle.

5. Pipettieren und dispensieren Sie die Bibliotheken langsam, um die Bildung von Blasen zu verhindern, und stellen Sie sicher, dass das gesamte Volumen die Spitze verlässt.
6. Geben Sie die Komponenten für 20–30 Sekunden (bzw. bis diese gründlich vermischt sind) in einen Vortexer.

**i** | Die ExAmp-Master-Mischung ist stabil genug, um in einen Vortexer gegeben zu werden.

Die Mischung erscheint u. U. trüb. Das ist normal.

7. Zentrifugieren Sie die Mischung bis zu 1 Minute lang bei max. 280 × g.
8. **Fahren Sie unmittelbar mit den nächsten Schritt fort, um die beste Sequenzierungsleistung zu erzielen. Die Master-Mischung kann, wenn nötig, bis zu 1 Stunde auf Eis gelagert werden. Verwenden Sie die Mischung innerhalb von 30 Minuten, wenn sie bei Raumtemperatur gelagert wird.**

## Laden von Bibliotheken auf die Fließzelle

Dies besten Ergebnisse erzielen Sie anhand der folgenden Schritte:

- Halten Sie die geladene Fließzelle auf Raumtemperatur. Kühlen Sie die Fließzelle nicht und lagern Sie sie nicht auf Eis.
  - Eine längere Inkubation kann den Anteil der Cluster nach Filterung (%PF) beeinträchtigen.
  - Starten Sie den Lauf innerhalb von 30 Minuten nach dem Laden der Bibliothekspools auf die Fließzelle.
  - Die besten Ergebnisse werden bei unmittelbarer Verwendung der ExAmp-Bibliothek-Mischung erzielt.
1. Geben Sie ExAmp-Master-Mischung wie folgt in jeden denaturierten Bibliothekspool und mischen Sie die Flüssigkeiten 20–30 Sekunden mit einem Vortexer.

Pipettieren Sie bei der Verwendung von Röhrchenstreifen die Mischung, bis diese homogen ist.

Modus	Denaturierter Bibliothekspool (µl)	ExAmp-Master-Mischung (µl)	Endvolumen (µl)
SP/S1	27	63	<b>90</b>
S2	33	77	<b>110</b>
S4	45	105	<b>150</b>

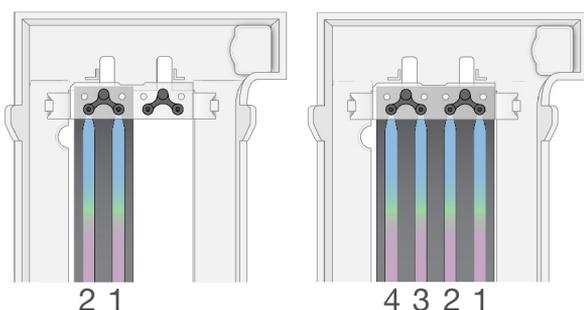
2. Zentrifugieren Sie die Mischung bis zu 1 Minute lang bei max. 280 × g.
3. Geben Sie mit einer 200-µl-Pipette das entsprechende Volumen ExAmp-Bibliothek-Mischung in jeden Well des NovaSeq Xp-Manifolds.
  - Laden Sie Proben langsam, um die Bildung von Blasen zu verhindern.
  - Stellen Sie sicher, dass Sie die Bibliothekspoolmischung in den zur vorgesehenen Lane gehörigen Well geben.
  - Berühren Sie beim Pipettieren nicht den Filter am Well-Boden.

- Es muss nicht gewartet werden, bis die Lane komplett gefüllt ist, bevor die Mischung in die anderen Manifold-Wells gegeben wird.

Modus	Bibliothek-ExAmp-Mischung pro Well (µl)
SP/S1	80
S2	95
S4	130

Die Nummerierung der Wells des NovaSeq Xp-Manifold entspricht der Nummerierung der Fließzellen-Lanes. Wenn die Fließzelle umgedreht wird, kehrt sich die Lane-Nummerierung um.

Abbildung 20 Umgekehrte Lane-Nummerierung



4. Warten Sie, nachdem die ExAmp-Bibliothek-Mischung in alle Manifold-Wells gegeben wurde, ca. 2 Minuten, bis die Mischung die gegenüberliegende Seite der einzelnen Lanes erreicht hat. Eine kleine Luftblase an der Auslassseite der Lane ist normal. Unter Umständen verbleibt nach dem Füllen der Lane eine geringe Menge der Mischung in den Manifold-Wells.

**!** Neigen Sie die Fließzelle nicht, wenn Sie prüfen, ob die Lanes gefüllt oder Blasen vorhanden sind. Beim Neigen läuft die ExAmp-Bibliothek-Mischung u. U. aus der Fließzelle. Unternehmen Sie keine Korrekturversuche, wenn ein Lane nicht komplett gefüllt wird. Aus nur teilweise gefüllten Lanes lassen sich u. U. weniger Daten gewinnen. Versuchen Sie nicht, die Probe aus der Fließzelle zu entnehmen.

**i** Neigen Sie die Fließzelle beim Transport nicht.

## Vorbereiten von SBS- und Clusterkartuschen

1. Überprüfen Sie jeweils die Unterseite der einzelnen Kartuschen, um sicherzustellen, dass die Behälter frei von Eis sind. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Reagenzien aufgetaut sind.
2. Invertieren Sie die einzelnen Kartuschen 10 Mal, um die Reagenzien zu mischen.
3. Klopfen Sie die Unterseite der einzelnen Kartuschen leicht auf den Tisch, um die Anzahl von Luftblasen zu verringern.

## Vorbereiten benutzerdefinierter Primer

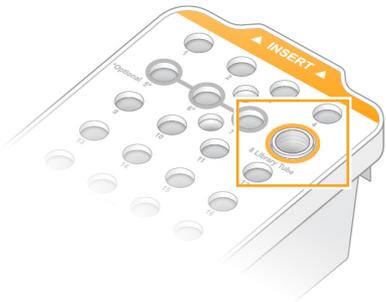
Wenn die Bibliothek anwendungsspezifische Primer erfordert, bereiten Sie diese wie im *Handbuch für anwendungsspezifische Primer für die NovaSeq Series (Dokument-Nr. 1000000022266)* angegeben vor.

## Laden des leeren Bibliotheksröhrchens

1. Entfernen Sie die Kappe des im NovaSeq 6000-Reagenzien-Kit enthaltenen Bibliotheksröhrchens.
2. Setzen Sie das leere Bibliotheksröhrchen ohne Kappe in Position (Nr. 8) der **Library Tube** (Bibliotheksröhrchen) der Clusterkartusche ein.

Das leere Bibliotheksröhrchen muss für den RFID-Scan und das Mischen von Reagenzien im Gerät eingesetzt sein. Der Barcode des Bibliotheksröhrchens wird nicht mit dem in der LIMS-Datei angegebenen Barcode abgeglichen. Die RFID wird geprüft, um sicherzustellen, dass das Röhrchen unbenutzt ist.

Abbildung 21 In Position 8 geladenes Bibliotheksröhrchen ohne Kappe



# Sequenzierung

## Konfigurieren eines Sequenzierungslaufs

Illumina empfiehlt, dass Sie angemeldet bleiben, während NVCS ausgeführt und ein Sequenzierungslauf durchgeführt wird.

1. Entfernen Sie alle Gegenstände von der Oberfläche des Geräts.  
Halten Sie die Oberfläche während des Sequenzierungslaufs frei von Gegenständen und lehnen Sie sich nicht gegen das Gerät. Druck auf die Fließzellentür führt u. U. dazu, dass sich diese öffnet, wodurch der Lauf angehalten wird. Ein angehaltener Lauf kann nicht fortgesetzt werden.

**i** | Neue Läufe können gestaffelt gestartet werden. Der Timer für gestaffelte Starts gibt an, wann ein entsprechender Lauf gestartet werden kann. Weitere Informationen finden Sie unter [Gestaffelter Start von Läufen auf Seite 65](#).

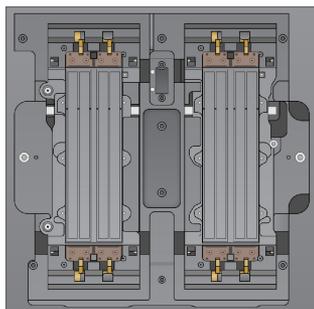
2. Wählen Sie auf dem Bildschirm „Home“ (Start) die Option **Sequence** (Sequenzieren) und anschließend einen Lauf mit einer oder mit zwei Fließzellen:
  - **A+B**: Konfigurieren Sie einen Lauf mit zwei Fließzellen.
  - **A**: Konfigurieren Sie einen Lauf mit einer Fließzelle auf Seite A.
  - **B**: Konfigurieren Sie einen Lauf mit einer Fließzelle auf Seite B.

Die Software startet die Folge der Laufkonfigurationsbildschirme, der erste ist „Load“ (Laden).
3. Wählen Sie „OK“ aus, um die Warnung zu bestätigen, und öffnen Sie die Fließzellentür.

### Laden der Fließzelle in das Gerät

1. Entfernen Sie ggf. die Fließzelle des vorherigen Laufs.
2. Sollten Partikel auf dem Fließzellentisch sichtbar sein, reinigen Sie den kompletten Tisch, einschließlich der Glasoberfläche des Ziels für die Justierung der Optik, mit einem Alkoholtupfer. Trocknen Sie sie mit einem fusselreien Tuch.

Abbildung 22 Fließzellentisch



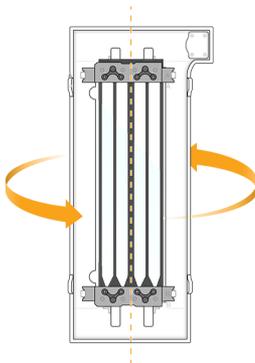
3. **[Standard-Workflow]** Nehmen Sie die Fließzelle wie folgt aus der Verpackung.

- a. Ziehen Sie ein neues Paar ungepudertes Handschuhe an, um eine Kontaminierung der Glasoberfläche der Fließzelle zu vermeiden.
- b. Halten Sie die Verpackung über eine glatte Oberfläche und reißen Sie die Folie von der Eckflasche aus auf.
- c. Entfernen Sie die durchsichtige Kunststoffhalterung von der Fließzelle.
- d. Nehmen Sie die Fließzelle aus der Verpackung. Halten Sie die Fließzelle an den Seiten, um das Glas oder die Dichtungen an der Unterseite nicht zu berühren.
- e. Wenn Partikel auf einer der Glasoberflächen sichtbar sind, reinigen Sie die jeweilige Oberfläche mit einem fusselfreien Alkoholtupfer und trocknen Sie sie mit einem fusselfreien Labortuch.
- f. Entsorgen Sie die Verpackung ordnungsgemäß.

**i** | Einige Kratzer und andere kleinere kosmetische Mängel auf der Fließzelle sind normal und lassen keine Beeinträchtigung der Datenqualität erwarten. Illumina empfiehlt die normale Verwendung dieser Fließzellen.

4. **[NovaSeq Xp-Workflow]** Entfernen Sie die Fließzelle wie folgt aus der Station.
  - a. Öffnen Sie die Klemme, die die Fließzelle und das Manifold arretiert.
  - b. Entfernen Sie vorsichtig das Manifold, ohne dass Flüssigkeit auf die Fließzelle tropft, und entsorgen Sie es.
  - c. Falls Flüssigkeit auf die Fließzelle getropft ist, reinigen Sie sie mit einem fusselfreien Alkoholtupfer und trocknen Sie sie mit einem fusselfreien Labortuch.
  - d. Fassen Sie die Fließzelle an beiden Seiten, um sie aus der Station zu entfernen. Halten Sie die Fließzelle waagrecht.
  - e. Tupfen Sie die Dichtungen mit einem fusselfreien Tuch trocken, wenn sich Rückstände an ihnen befinden. Berühren Sie die Dichtungen nicht.
  - f. Drehen Sie die Fließzelle entlang der Längsachse um, sodass die obere Oberfläche nach oben zeigt.

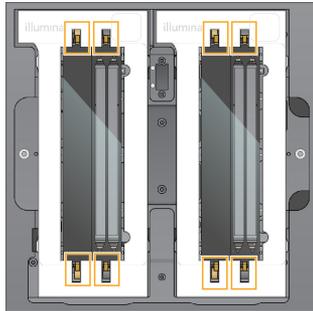
Abbildung 23 Umdrehen der Fließzelle entlang der Längsachse



- g. Kontrollieren Sie die Station auf Verunreinigungen, bevor Sie sie wieder einlagern.

5. Richten Sie die Fließzelle über den vier hervorstehenden Klemmen aus und platzieren Sie sie auf dem Fließzellentisch.

Abbildung 24 Über den Klemmen ausgerichtete geladene Fließzellen



6. Wählen Sie „**Close Flow Cell Door**“ (Fließzellentür schließen).  
Die Fließzellentür wird geschlossen, die Sensoren und die RFID werden überprüft und die ID der Fließzelle wird auf dem Bildschirm angezeigt.

## Laden der SBS- und Clusterkartuschen

**i** | Stellen Sie beim NovaSeq Xp-Workflow vor dem Laden der Clusterkartusche sicher, dass das Bibliotheksröhrchen leer und ohne Kappe in die Kartusche geladen wurde.

1. Öffnen Sie die Flüssigkeitskammertüren und dann die Reagenzienkühlertür.
2. Entfernen Sie die benutzten SBS- und Clusterkartuschen.  
Die Verschlussfolien benutzter Kartuschen sind durchstoßen.
3. Entsorgen Sie die nicht verbrauchten Inhalte gemäß den geltenden Sicherheitsvorschriften.  
Weitere Informationen zur sicheren Entsorgung von Position 30 der Clusterkartusche finden Sie unter [Lösen von Position 30 auf Seite 66](#).

4. Laden Sie die vorbereiteten Kartuschen so in die Reagenzienkühler Schublade, dass die mit **Insert** (Einsetzen) beschrifteten Etiketten zur Hinterseite des Geräts zeigen:
  - Platzieren Sie die SBS-Kartusche (graues Etikett) in der linken Position.
  - Platzieren Sie die Clusterkartusche (orangefarbenes Etikett) mit dem Bibliotheksröhrchen ohne Kappe in der rechten Position.

Abbildung 25 Geladene Reagenzienkartuschen

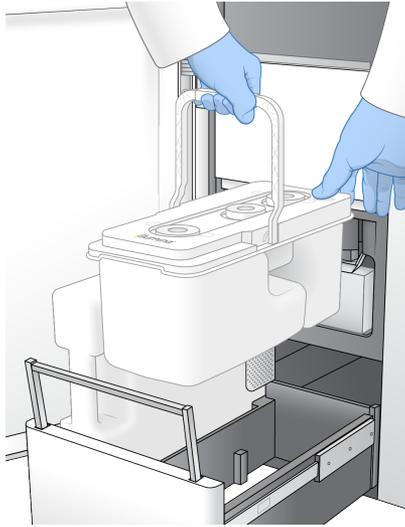


5. Schieben Sie die Schublade in den Kühler und schließen Sie die Reagenzienkühlertür. Die Sensoren und die RFIDs werden überprüft. Die IDs für das Bibliotheksröhrchen und die zwei Kartuschen werden auf dem Bildschirm angezeigt.

## Einsetzen der Pufferkartusche

1. Ziehen Sie am Metallgriff, um die Pufferschublade zu öffnen.
2. Entfernen Sie die benutzte Pufferkartusche auf der rechten Seite der Pufferschublade. Die Verschlussfolien benutzter Pufferkartuschen sind durchstoßen.
3. Setzen Sie eine neue Pufferkartusche so in die Pufferschublade ein, dass die Aufschrift **Illumina** zur Vorderseite der Schublade zeigt. Richten Sie die Kartusche an den hervorstehenden Führungen am Schubladenboden und an den Seiten aus.  
Wenn die Pufferkartusche richtig geladen wurde, sitzt sie gleichmäßig und die Schublade lässt sich schließen.

Abbildung 26 Einsetzen der Pufferkartusche



4. Aktivieren Sie, wenn beide Flaschen für benutzte Reagenzien geleert wurden, das Kontrollkästchen, um zu bestätigen, dass beide Flaschen für benutzte Reagenzien leer sind.

**!** Werden die Flaschen für benutzte Reagenzien nicht geleert, kann dies den Abbruch eines Laufs und das Austreten von Reagenzien zur Folge haben. Letzteres kann das Gerät beschädigen und stellt ein Sicherheitsrisiko dar.

5. Wählen Sie die verfügbare Schaltfläche:

- **Log In** (Anmelden): Öffnet den Anmeldebildschirm für die Anmeldung in Ihrem Cloud-Konto. Fahren Sie für BaseSpace Sequence Hub mit [Melden Sie sich bei BaseSpace Sequence Hub an auf Seite 59](#) (Anmelden bei) fort. Fahren Sie für Illumina Connected Analytics mit [Melden Sie sich bei Illumina Connected Analytics an auf Seite 60](#) (Anmelden bei) fort.
- **Run Setup** (Laufkonfiguration): Überspringt BaseSpace Sequence Hub und öffnet den Bildschirm „Run Setup“ (Laufkonfiguration) für die Eingabe der Laufparameter. Fahren Sie mit [Eingeben von Laufparametern auf Seite 60](#) fort.

Welche Schaltfläche verfügbar ist, hängt davon ab, ob das System für BaseSpace Sequence Hub konfiguriert ist.

## Melden Sie sich bei BaseSpace Sequence Hub an

Beim Öffnen von NVCS wird Ihre Standardarbeitsgruppe aus BaseSpace Sequence Hub als Arbeitsgruppe ausgewählt. Wenn Sie keine Standardarbeitsgruppe festgelegt haben, wird Ihre persönliche Arbeitsgruppe ausgewählt.

1. **[Optional]** Ändern Sie die BaseSpace Sequence Hub-Einstellungen für den aktuellen Lauf:
  - Um BaseSpace Sequence Hub zu deaktivieren, deaktivieren Sie das Kontrollkästchen für **BaseSpace Sequence Hub** und wählen Sie dann **Run Setup** (Laufkonfiguration), um ohne Anmeldung fortzufahren.

- Um an BaseSpace Sequence Hub Laufdaten zwecks Remote-Überwachung und Datenanalyse zu senden, wählen Sie **Run Monitoring and Storage** (Laufüberwachung und -speicherung). Für diese Option ist ein Probenblatt erforderlich.
  - Um InterOp-Dateien und die Dateien „runinfo.xml“ und „runParameters.xml“ an BaseSpace Sequence Hub zu senden, um den Lauf remote zu überwachen, wählen Sie **Run Monitoring Only** (Nur Laufüberwachung).
2. Geben Sie Ihren Benutzernamen und das Kennwort für BaseSpace Sequence Hub ein und wählen Sie **Sign In** (Anmelden).
  3. Wählen Sie bei Aufforderung eine Arbeitsgruppe, in die die Laufdaten hochgeladen werden sollen, und wählen Sie dann **Run Setup** (Laufkonfiguration).  
Sie werden nur dazu aufgefordert, wenn Sie mehreren Workgroups angehören.

## Melden Sie sich bei Illumina Connected Analytics an

1. **[Optional]** Aktualisieren Sie die folgenden Illumina Connected Analytics (ICA) Einstellungen für den aktuellen Lauf:
  - Um ICA zu deaktivieren, deaktivieren Sie das Kontrollkästchen Illumina Cloud-Optionen und wählen Sie **Run Setup** (Laufkonfiguration), um fortzufahren, ohne sich anzumelden.
  - Um an ICA Laufdaten zwecks Remote-Überwachung und Datenanalyse zu senden, wählen Sie **Run Monitoring and Storage** (Laufüberwachung und -speicherung). Für diese Option ist ein Probenblatt erforderlich.
  - Um InterOp-Dateien und die Dateien „runinfo.xml“ und „runParameters.xml“ an ICA zu senden, um den Lauf remote zu überwachen, wählen Sie **Run Monitoring Only** (Nur Laufüberwachung).
2. Geben Sie Ihren Benutzernamen und das Kennwort für ICA ein und wählen Sie **Sign In** (Anmelden).
3. Wählen Sie bei Aufforderung eine Arbeitsgruppe und ein Projekt, in die/das die Laufdaten hochgeladen werden sollen, und wählen Sie dann **Run Setup** (Laufkonfiguration).

## Eingeben von Laufparametern

1. Wählen Sie einen Workflow-Typ aus, wenn der NovaSeq Xp-Workflow aktiviert ist.
  - Stellen Sie bei Auswahl der Option **NovaSeq Xp** sicher, dass ein leeres Bibliotheksröhrchen geladen wurde.
  - Stellen Sie bei Auswahl der Option **NovaSeq Standard** sicher, dass die Probe in das Bibliotheksröhrchen geladen wurde.
2. Geben Sie im Feld „Run Name“ (Laufname) einen beliebigen Namen für den aktuellen Lauf ein. Der Laufname kann alphanumerische Zeichen, Bindestriche und Unterstriche enthalten.

3. Geben Sie die Anzahl der Zyklen für jeden Read im Sequenzierungslauf und die entsprechende Indexlänge an.

Es gibt keinen Maximalwert für die Indexzyklen. Die Summe der Read- und Indexzyklen muss jedoch geringer sein als die Anzahl der Zyklen für das Kit.

- **Read 1:** Geben Sie einen Wert von bis zu 151 Zyklen für 300-Zyklus-Kits der Version 1.0 bzw. einen Wert von bis zu 251 Zyklen für 500-Zyklus-Kits der Version 1.0 ein. Geben Sie einen Wert von bis zu 159 Zyklen für 300-Zyklus-Kits der Version 1.5 bzw. einen Wert von bis zu 259 Zyklen für 500-Zyklus-Kits der Version 1.5 ein.
- **Index 1:** Geben Sie die Anzahl der Zyklen für den Index 1 (i7) Primer ein.
- **Index 2:** Geben Sie die Anzahl der Zyklen für den Index 2 (i5) Primer ein.
- **Read 2:** Geben Sie einen Wert von bis zu 151 Zyklen für 300-Zyklus-Kits der Version 1.0 bzw. einen Wert von bis zu 251 Zyklen für 500-Zyklus-Kits der Version 1.0 ein. Geben Sie einen Wert von bis zu 159 Zyklen für 300-Zyklus-Kits der Version 1.5 bzw. einen Wert von bis zu 259 Zyklen für 500-Zyklus-Kits der Version 1.5 ein. Dieser Wert ist in der Regel der gleiche wie der Wert für Read 1.

**i** | Die Anzahl der in Read 1 und Read 2 analysierten Zyklen ist um einen Zyklus geringer als der eingegebene Wert. Um beispielsweise einen Paired-End-Lauf mit 150 Zyklen ( $2 \times 150$  bp pro Lauf) durchzuführen, müssen Sie für Read 1 und Read 2 den Wert von 151 Zyklen eingeben.

Bei Kits der Version 1.0 kann die Summe der vier eingegebenen Werte die für das ausgewählte Reagenzien-Kit angegebene Anzahl der Zyklen um bis zu 23 Zyklen für Paired-End-Läufe bzw. 30 Zyklen für Single-Read-Läufe übersteigen.

Bei Kits der Version 1.5 kann die Summe der vier eingegebenen Werte die für das ausgewählte Reagenzien-Kit angegebene Anzahl der Zyklen um bis zu 38 Zyklen für Paired-End- und Single-Read-Läufe übersteigen

Das S4-Kit für 35 Zyklen enthält insgesamt 72 Sequenzierungszyklen. Die Summe der vier Werte kann die angegebene Anzahl um höchstens 37 Zyklen überschreiten. Die Read-Standardwerte können bearbeitet werden. Die Anzahl der Zyklen lässt sich auf die 4 Reads verteilen, z. B.: 36, 10, 10, 0.

4. Erweitern Sie **Advanced Options** (Erweiterte Optionen), um Einstellungen für den aktuellen Lauf festzulegen.

Diese Einstellungen sind optional, sofern nicht anders angegeben.

- **v1.0 Anwendungsspezifische Primer:** Aktivieren Sie das Kontrollkästchen **Custom Primers** (Anwendungsspezifische Primer) und wählen Sie dann die entsprechenden Kontrollkästchen. Illumina DNA PCR-Free Prep, Tagmentation-Bibliotheken erfordern einen benutzerdefinierten Read 1 (VP10)-Sequenzierungsprimer, wenn v1.0-Kits verwendet werden. Siehe *Handbuch für anwendungsspezifische Primer für die NovaSeq Series (Dokument-Nr. 1000000022266)* für weitere Details.

- **Read 1:** Anwendungsspezifischen Primer für Read 1 verwenden.
- **Read 2:** Anwendungsspezifischen Primer für Read 2 verwenden.
- **Custom Index** (Anwendungsspezifischer Index): Anwendungsspezifischen Primer für Index 1 verwenden.
- **v1.5 Anwendungsspezifische Primer:** Aktivieren Sie das Kontrollkästchen **Custom Primers** (Anwendungsspezifische Primer) und wählen Sie dann die entsprechenden Kontrollkästchen. Illumina DNA PCR-Free Prep, Tagmentation-Bibliotheken benötigen keinen anwendungsspezifischen Primer, wenn v1.5-Kits verwendet werden. Siehe *Handbuch für anwendungsspezifische Primer für die NovaSeq Series (Dokument-Nr. 1000000022266)* für weitere Details.
  - **Read 1:** Anwendungsspezifischen Primer für Read 1 verwenden.
  - **Read 2:** Anwendungsspezifischen Primer für Read 2 verwenden.
  - **Custom Index** (Anwendungsspezifischer Index): Anwendungsspezifischen Primer für Index-1- und für Index-2-Reads verwenden.
- **Output Folder** (Ausgabeordner): Wählen Sie **Browse** (Durchsuchen), um den Ausgabeordner für den aktuellen Lauf zu ändern. Ein Ausgabeordner ist erforderlich, wenn der Lauf für die Speicherung nicht mit BaseSpace Sequence Hub oder Illumina Connected Analytics verbunden ist.
- **Samplesheet** (Probenblatt): Wählen Sie **Browse** (Durchsuchen) aus, um ein Probenblatt hochzuladen, das erforderlich ist, wenn BaseSpace Sequence Hub oder Illumina Connected Analytics zur Laufüberwachung und Speicherung verwendet wird, oder um eine andere CSV-Datei hochzuladen. Die CSV-Datei wird in den Ausgabeordner kopiert und hat keinen Einfluss auf die Laufparameter. Vergewissern Sie sich, dass das Probenblatt im entsprechenden Format (Adapterausrichtung von Index-Read 2) gemäß den Workflows der Version 1.0 bzw. 1.5 vorliegt, da diese ein unterschiedliches Design aufweisen. Der Workflow für den Vorwärtsstrang wird mit Reagenzien-Kits der Version 1.0 durchgeführt. Der Workflow für das umgekehrte Komplement wird mit Reagenzien-Kits der Version 1.5 durchgeführt.
- **Custom Recipe** (Anwendungsspezifische Rezeptur): Wählen Sie **Custom Recipe** (Anwendungsspezifische Rezeptur) und anschließend **Browse** (Durchsuchen), um für diesen Lauf eine anwendungsspezifische Rezeptur im XML-Format zu verwenden. Benutzerdefinierte Rezepturen für v1.0 sind mit v1.5 nicht kompatibel. Wenden Sie sich für weitere Informationen an den technischen Support von Illumina.



Die Änderung der Clusterbildungsschritte in anwendungsspezifischen Rezepturen wird nicht unterstützt.

5. Wählen Sie **Review** (Überprüfung).

Die Software bestätigt, dass die angegebenen Parameter für das Rezept geeignet sind.

## Prüfen der Laufparameter

1. Prüfen Sie die Laufparameter, die auf dem Bildschirm „Review“ (Überprüfung) angezeigt werden.
2. **[Optional]** Wählen Sie **Back** (Zurück), um zum Bildschirm „Run Setup“ (Laufkonfiguration) zurückzukehren und Laufparameter zu bearbeiten.
3. Wählen Sie **Start Run** (Lauf starten).  
Die Selbsttests werden automatisch gestartet.

## Überprüfen der Selbsttests

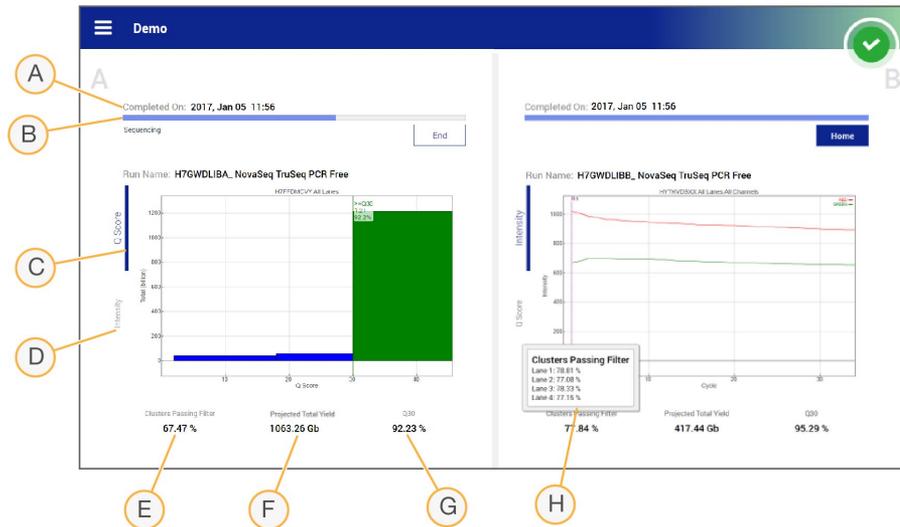
1. Warten Sie etwa 5 Minuten, bis die Selbsttests abgeschlossen sind.  
Nach erfolgreichem Abschluss startet der Lauf automatisch.  
  
 | Damit die Festplatte nicht zu voll wird, kopieren Sie keine Daten auf das Laufwerk C, sobald der Lauf gestartet wurde.
2. Wenn die Selbsttests aufgrund eines Sensorfehlers fehlschlagen, z. B. wenn die Fließzelle nicht erkannt wird, muss der Arbeitsablauf beendet und neugestartet werden.
3. Wählen Sie bei anderen Selbsttestfehlern **Retry** (Erneut versuchen), um den fehlerhaften Selbsttest erneut zu starten, oder wählen Sie **Retry All** (Alle erneut versuchen), um alle Selbsttests zu wiederholen.  
Fehler müssen vor dem Start des Laufs behoben werden. Weitere Informationen zur Fehlerbehebung finden Sie unter [Fehler beim Selbsttest auf Seite 77](#).
4. Wählen Sie das Symbol „**Error**“ (Fehler) aus, um die Einzelheiten zum Fehler aufzurufen.
5. Wenn der Alignment-Selbsttest fehlschlägt, beheben Sie so den Fehler:
  - a. Wählen Sie **Reload** (Erneut laden) und anschließend **OK** aus, um zum Bildschirm „Load“ (Laden) zurückzukehren.
  - b. Entfernen Sie alle sich auf dem Gerät befindenden Gegenstände und wählen Sie „**OK**“ aus. Die Fließzellentür wird geöffnet.
  - c. Laden Sie die Fließzelle erneut und wählen Sie „**Run Setup**“ (Einrichten des Laufs) aus.
  - d. Befolgen Sie die Anweisungen auf den folgenden Bildschirmen. Die RFID wird erneut gelesen und Sie werden zum Bildschirm „Pre-Run Checks“ (Selbsttests) zurückgeleitet.
  - e. Wiederholen Sie den Selbsttest.

# Überwachen des Lauffortschritts

- Sie können den Lauffortschritt, Intensitäten und Qualitäts-Scores überwachen, während auf dem Bildschirm Kennzahlen aufgeführt werden.

Weitere Informationen zu Laufkennzahlen finden Sie unter [Real-Time Analysis auf Seite 82](#).

Abbildung 27 Fortschritt und Kennzahlen eines Sequenzierungslaufs



- Time to completion** (Laufdauer): Das Datum und die Uhrzeit (JJJJ-MM-TT hh:mm) des Laufendes.
- Run progress** (Lauffortschritt): Der aktuelle Laufschrift. Die Größe des Fortschrittsbalkens ist nicht proportional zur Laufgeschwindigkeit der einzelnen Schritte.
- Q-Scores**: Die Verteilung der Qualitäts-Scores (Q-Scores).
- Intensity** (Intensität): Der Wert der Clusterintensitäten von 90 % der Daten für jede Platte. Plot-Farben kennzeichnen die roten und grünen Kanäle.
- Clusters passing filter (%)** (Cluster nach Filterung [%]): Der Prozentsatz der Cluster nach Filterung.
- Erwartetes Gesamtergebnis in Gb**: Das erwartete Gesamtergebnis für den FC-Lauf. Wenn die Metriken für einzelne Lanes (H) ausgewählt sind, geben die Zahlen das aktuelle Ergebnis für die einzelnen Lanes an und werden mit jedem Lauf-Zyklus aktualisiert.
- Q30**: Der Prozentsatz der Base-Calls für den Lauf, deren Q-Score  $\geq 30$  ist.
- Aufschlüsselung nach Lanes**: Bei Auswahl der Werte in den Elementen E, F und G werden für jedes dieser Felder die Daten nach Lane aufgeschlüsselt angezeigt.

**i** | Wenn das Gerät ausgeschaltet oder neu gestartet werden soll, während NVCS ausgeführt wird, muss dieser Vorgang bestätigt werden, ehe die Abschaltung oder der Neustart ausgeführt werden kann.

## Laufkennzahlen

Die Software zeigt Kennzahlen an, die während des Laufs generiert wurden. Die Kennzahlen werden in Form von Schaubildern, Diagrammen und Tabellen dargestellt und basieren auf den Daten, die von RTA3 generiert und in InterOp-Dateien geschrieben wurden.

Das Clustering dauert ungefähr 2 Stunden, dann beginnt die Sequenzierung mit Zyklus 1. Die Kennzahlen werden während der Sequenzierung aktualisiert. Die Kennzahlen für Cluster nach Filterung, Ergebnis und Qualitätsbewertungen sind nach Zyklus 26 verfügbar. Bis Zyklus 26 wird statt Werten N. z. angegeben.

## Verarbeitungsstatus

Der Bildschirm „Process Management“ (Prozessmanagement) zeigt den Status der einzelnen Läufe an. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **Process Management** (Prozessmanagement).

Unter „Process Management“ (Prozessmanagement) wird für jeden Laufnamen der Status der folgenden Prozesse aufgelistet:

- **Laufstatus:** Basiert auf der Verarbeitung der CBCL-Dateien.
- **Network** (Netzwerk): basiert auf der Dateiübertragung mithilfe des Universal Copy Service.
- **BaseSpace:** Basiert ggf. auf dem Dateiuupload in BaseSpace Sequence Hub.

Wenn ein Prozess abgeschlossen ist, wird ein grünes Häkchen angezeigt. Weitere Informationen finden Sie unter [Prozessmanagement auf Seite 11](#).

## Gestaffelter Start von Läufen

Auf der nicht verwendeten Seite des Geräts können Läufe konfiguriert und gestartet werden, während auf der anderen Seite ein Lauf durchgeführt wird. Dies wird als gestaffelter Start bezeichnet. Gestaffelte Läufe werden zu bestimmten Zeiten während eines Laufs eingerichtet, die der Startcountdown-Timer wie folgt angibt.

- **Run Start: Available** (Laufstart: möglich): Ein gestaffelter Start ist derzeit möglich. Das angezeigte Datum und die angezeigte Uhrzeit geben an, bis zu welchem Zeitpunkt der gestaffelte Start noch möglich ist. Wählen Sie **Sequence** (Sequenzieren) aus, um einen neuen gestaffelten Lauf zu starten, nachdem der derzeitige Zyklus abgeschlossen wurde.
- **Run Start: Unavailable** (Laufstart: nicht möglich): Ein gestaffelter Start ist derzeit nicht möglich. Das angezeigte Datum und die angezeigte Uhrzeit geben an, zu welchem Zeitpunkt auf der anderen Seite des Geräts ein gestaffelter Start durchgeführt werden kann.
- **„Waiting...“** (Warten...): Wenn versucht wird, einen neuen Lauf zu starten, während der gestaffelte Start nicht möglich ist, wechselt der Status zu „Waiting...“ (Warten...). Das angezeigte Datum und die angezeigte Uhrzeit geben ungefähr an, zu welchem Zeitpunkt ein neuer Lauf im Gerät durchgeführt werden kann. Das Gerät startet die Laufeinrichtung, sobald ein gestaffelter Start möglich ist.

Wenn Sie den neuen Lauf einrichten, hält die Software den Lauf automatisch an und setzt ihn bei Bedarf auf der benachbarten Fließzelle fort. Das System wird beim Anhalten automatisch in einen sicheren Zustand versetzt.

## Verfahren

1. Wählen Sie auf dem Bildschirm „Home“ (Start) die Option „**Sequence**“ (Sequenzieren) und dann **A** oder **B** aus.  
Bei der gewählten Seite muss es sich um die derzeit nicht benutzte Seite handeln.
2. Warten Sie, bis der Lauf auf der benachbarten Fließzelle angehalten wird. Um den neuen Lauf abubrechen und das Anhalten zu vermeiden, wählen Sie **Cancel** (Abbrechen) aus.  
Wenn beim benachbarten Lauf eine Clusterbildung, Paired-End-Resynthese, Bildgebung oder ein Waschlauf durchgeführt wird, schließt die Software den aktuellen Schritt vor dem Anhalten ab.
3. Wenn der benachbarte Lauf angehalten und die Fließzellentür geöffnet wurde, richten Sie den neuen Lauf ein.  
Nachdem der neue Lauf gestartet wurde, wird der angehaltene Lauf automatisch fortgesetzt.

## Löschen des Laufs

Nach der Datenübertragung können Sie auf dem Bildschirm „Process Management“ (Prozessmanagement) den aktuellen Lauf löschen, um Speicherplatz für einen nachfolgenden Lauf freizugeben. Durch Löschen des Laufs werden CE und Laufwerk C bereinigt. Dabei werden keine Systemwartungsdateien gelöscht und es hat keine Auswirkungen auf das Netzwerk oder die BaseSpace Sequence Hub-Kopie. Läufe können nicht während der Sequenzierung für den betreffenden Lauf gelöscht werden.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **Process Management** (Prozessmanagement).
2. **[Optional]** Stellen Sie sicher, dass für jeden Prozess für den Lauf ein grünes Häkchen angezeigt wird. Dies gibt an, dass die Datenübertragung abgeschlossen ist.  
Sie können einen Lauf löschen, für den die Übertragung an ein Netzwerk oder an BaseSpace Sequence Hub nicht abgeschlossen ist, jedoch gehen dabei alle Laufdaten verloren.
3. Wählen Sie **Delete Run** (Lauf löschen) und anschließend **Yes** (Ja) zum Bestätigen.
4. Wählen Sie **Done** (Fertig).

## Lösen von Position 30

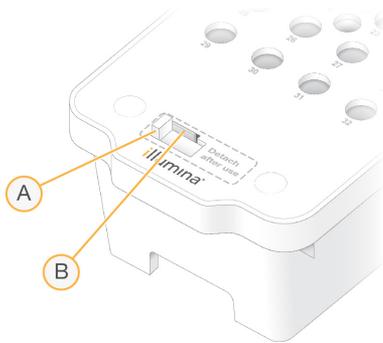
Der Behälter in Position 30 der Clusterkartusche enthält Formamid. Er wird aus der verwendeten Clusterkartusche entfernt und separat entsorgt.

**!** Diese Reagenzien enthalten potenziell gesundheitsschädliche Chemikalien. Personen können sich durch Einatmen, Verschlucken oder durch Kontakt mit der Haut oder den Augen verletzen. Die Belüftung sollte für den Umgang mit gefährlichen Materialien in Reagenzien geeignet sein. Tragen Sie eine dem Expositionsrisiko entsprechende Schutzausrüstung, insbesondere Schutzbrille, Handschuhe und Laborkittel. Verbrauchte Reagenzien sind als chemische Abfälle zu behandeln. Entsorgen Sie sie daher gemäß den geltenden regionalen, nationalen und lokalen Gesetzen und Vorschriften. Zusätzliche umwelt-, gesundheits- und sicherheitsbezogene Informationen finden Sie in den Sicherheitsdatenblättern (SDS) unter [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

1. Drücken Sie mit Handschuhen die weiße, mit „**Detach after use**“ (Lösen nach Gebrauch) gekennzeichnete Kunststoffzunge nach rechts.
2. Halten Sie eine Hand oder einen stabilen flachen Gegenstand unter den Behälter und drücken Sie die durchsichtige Kunststoffzunge in Richtung der Aufschrift „**Illumina**“, um den Behälter unterhalb der Clusterkartusche zu entfernen.

**i** Stapeln Sie die Clusterkartuschen bei der Aufbewahrung nicht. Durch das Stapeln kann der Behälter versehentlich gelöst werden.

Abbildung 28 Entfernbare Position 30



- A. Weiße Kunststoffzunge zum Lösen
- B. Durchsichtige Kunststoffzunge zum Entfernen

3. Entsorgen Sie den Behälter gemäß den geltenden Sicherheitsvorschriften.

## Automatische Nachwaschung

Nach Abschluss der Sequenzierung beginnt die Software eine automatische Nachwaschung, die etwa 80 Minuten dauert. Das System pumpt 0,24%ige Natriumhypochlorit (NaOCl)-Lösung aus Position 17 und verdünnt sie auf 0,12 %. Die 0,12%ige NaOCl-Lösung wird in das ExAmp-Reagenz und in die Bibliothekspositionen, durch die Fließzelle und anschließend in die Flaschen für benutzte Reagenzien gepumpt. Der Waschlauf spült Matrizen aus dem System, um eine Kreuzkontaminierung zu verhindern.

Nach Abschluss des Waschlaufrs wird das System in einen sicheren Zustand versetzt und die Schaltfläche „Home“ (Start) wird aktiviert. Belassen Sie die Verbrauchsmaterialien bis zum nächsten Lauf in ihrer Position. Nach dem Waschlaufr bleiben die Sipper in den SBS- und Clusterkartuschen, wodurch verhindert wird, dass Luft in das System eindringt. Die Sipper in der Pufferkartusche werden angehoben, sodass die Flaschen für benutzte Reagenzien geleert werden können.

**i** | Ein Wartungswaschlaufr ist erforderlich, wenn während einer automatischen Nachwaschung ein Fehler auftritt und die Nachwaschung nicht vollständig durchgeführt wird.

# Wartung

## Präventive Wartung

Illumina empfiehlt, jährlich eine präventive Wartung durchführen zu lassen. Wenn Sie keinen Servicevertrag abgeschlossen haben, wenden Sie sich an den für Ihre Region zuständigen Kundenbetreuer oder an den technischen Support von Illumina, um einen Termin für eine kostenpflichtige präventive Wartung zu vereinbaren.

## Durchführen eines Wartungswaschlaufs

Die Software zeigt in folgenden Fällen eine Aufforderung zur Durchführung eines Wartungswaschlaufs an:

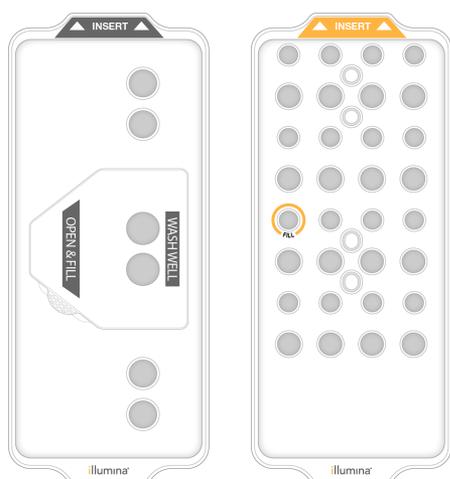
- Wenn nicht innerhalb der letzten 14 Tage ein Vier-Lane-Lauf mit Nachwaschung durchgeführt wurde.
- Wenn nicht innerhalb der letzten 14 Tage ein Wartungswaschlauf durchgeführt wurde.
- Wenn eine Nachwaschung fehlschlägt oder nur unvollständig erfolgt

Beim Wartungswaschlauf wird das System mit vom Benutzer bereitzustellenden Verdünnungen aus Tween 20 und NaOCl gespült. Die Verdünnungen werden aus den Waschlaufkartuschen in die Fließzelle, in die Flaschen für benutzte Reagenzien sowie in alle Kartuschenbehälter gepumpt, um alle Sipper zu waschen. Der Waschlauf dauert etwa 80 Minuten.

Für einen Wartungswaschlauf sind eine benutzte Pufferkartusche und die SBS-Waschlaufkartusche, die Cluster-Waschlaufkartusche sowie die 4-Lane-Waschlauf-Fließzelle erforderlich, die mit dem Gerät geliefert wurden (oder eine benutzte 4-Lane-Fließzelle). Wie die Reagenzienkartuschen verfügen auch die Waschlaufkartuschen über eine Farbcodierung, um Ladefehler zu vermeiden. Die SBS-Waschlaufkartusche verfügt über einen zentralen Well für die Tween 20-Verdünnung. Die NaOCl-Verdünnung wird in einen Behälter auf der Cluster-Waschlaufkartusche gegeben.

 | Werden die Flaschen für benutzte Reagenzien nicht geleert, kann dies den Abbruch des Waschlaufs und das Austreten von Reagenzien zur Folge haben. Letzteres kann das Gerät beschädigen und stellt ein Sicherheitsrisiko dar.

Abbildung 29 SBS-Waschlaufkartusche (links) und Cluster-Waschlaufkartusche (rechts)



## Vorbereiten der Waschlösung

1. Geben Sie 400 ml Wasser in Laborqualität in eine Zentrifugenflasche mit einer Kapazität von 500 ml.
2. Geben Sie 0,2 ml 100%iges Tween 20 hinzu, um mindestens 400 ml Tween 20-Waschlösung mit einer Konzentration von 0,05 % zu erhalten.  
Eine frisch vorbereitete Tween 20-Verdünnung minimiert das Eindringen biologischer Verunreinigungen in das Fluidiksystem.
3. Invertieren Sie sie zum Mischen.
4. Entfernen Sie den Deckel vom zentralen Well der SBS-Waschlaufkartusche.
5. Geben Sie die Waschlösung in den zentralen Well. Füllen Sie die Lösung bis zur Linie MIN FULL VOLUME (Mindestfüllvolumen) ein, die das erforderliche Mindestvolumen kennzeichnet.  
Die anderen Behälter können leer bleiben.

Abbildung 30 Mittlerer Well, bis zur Linie MIN FULL VOLUME (Mindestfüllvolumen) gefüllt

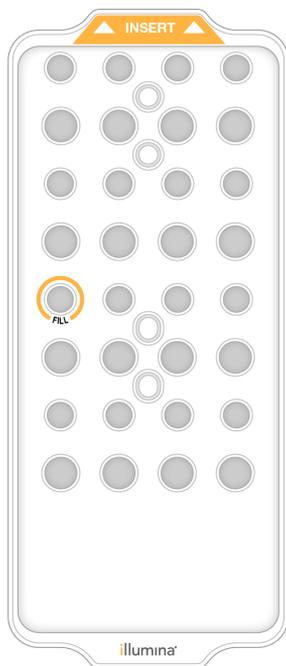


6. Mischen Sie folgende Volumina in einem 30-ml-Zentrifugenröhrchen, um 20 ml analysenreine NaOCl-Lösung mit einer Konzentration von 0,25 % vorzubereiten:
  - 5%ige analysenreine NaOCl-Lösung (1 ml)
  - Deionisiertes Wasser (19 ml)

- ! | Verwenden Sie ausschließlich analysenreine NaOCl-Lösung. Verwenden Sie keine Allzweckbleichprodukte, da diese Ammoniakverbindungen enthalten können, die dazu führen könnten, dass Läufe nur wenige Reads nach Filterung ergeben.

- Invertieren Sie sie zum Mischen.
- Fügen Sie 5 ml einer 0,25%igen analysenreinen NaOCl-Lösung in die Kartusche. Der Einlass ist mit „Fill“ (Einfüllen) sowie einem orangefarbenen Kreis gekennzeichnet. Alle anderen Behälter können leer bleiben.

Abbildung 31 Position für 0,25-%-NaOCl



## Laden der Waschlaufließzelle

- Entfernen Sie alle Gegenstände von der Oberfläche des Geräts. Halten Sie die Oberfläche während des Wartungswaschlaufs frei von Gegenständen und lehnen Sie sich nicht gegen das Gerät. Druck auf die Fließzellentür führt u. U. dazu, dass sich diese öffnet, wodurch der Waschlauf angehalten wird.

- Wählen Sie auf dem Bildschirm „Home“ (Start) die Option **Wash** (Waschlauf) und wählen Sie dann, welche Seite gewaschen werden soll:

- **A+B:** Beide Seiten gleichzeitig waschen.
- **A:** Nur Seite A waschen.
- **B:** Nur Seite B waschen.

Die Software startet die Folge der Waschlaufbildschirme.

**i** | Ein einseitiger Wartungswaschlauf kann nur gestartet werden, wenn die andere Seite nicht verwendet wird oder einen SBS-Read-Zyklus durchführt. Die Zeit für den gestaffelten Start im NVCS gibt an, wann ein neuer Lauf bzw. Waschlauf gestartet werden kann. Siehe [Gestaffelter Start von Läufen auf Seite 65](#).

- Wählen Sie „**OK**“ aus, um die Warnung zu bestätigen, und öffnen Sie die Fließzellentür.
- Wenn noch nicht geschehen, setzen Sie eine Waschlaufließzelle bzw. eine benutzte Fließzelle mit vier Lanes ein.
- Wählen Sie „**Close Flow Cell Door**“ (Fließzellentür schließen).  
Die Tür wird geschlossen, die Sensoren und RFID werden überprüft und die ID der Fließzelle wird auf dem Bildschirm angezeigt.

## Laden der Waschlaufkartuschen

Für einen Wartungswaschlauf sind Waschlaufkartuschen erforderlich. Verwenden Sie die benutzten SBS- und Clusterkartuschen nicht.

- Öffnen Sie die Flüssigkeitskammertüren und dann die Reagenzienkühlertür.
- Entfernen Sie die benutzten SBS- und Clusterreagenzienkartuschen. Entsorgen Sie die nicht verbrauchten Inhalte gemäß den geltenden Sicherheitsvorschriften in Ihrer Region.  
Weitere Informationen zur sicheren Entsorgung von Position 30 der Clusterkartusche finden Sie unter [Lösen von Position 30 auf Seite 66](#).
- Laden Sie die Waschlaufkartuschen so in die Reagenzienkühlerschublade, dass die Aufschrift **Insert** (Einsetzen) zur Hinterseite des Geräts weist:
  - Platzieren Sie die SBS-Kartusche (graues Etikett) in der linken Position.
  - Platzieren Sie die Clusterkartusche (orangefarbenes Etikett) in der rechten Position.
- Schieben Sie die Schublade in den Kühler und schließen Sie die Reagenzienkühlertür.  
Die Sensoren werden überprüft und die RFID für jede Kartusche wird gescannt und auf dem Bildschirm angezeigt.
- Öffnen Sie die Pufferschublade.
- Laden Sie eine benutzte Pufferkartusche, sofern nicht bereits eine vorhanden ist.

## Leeren der Flaschen für benutzte Reagenzien

Leeren Sie bei *jedem* Wartungswaschlauf die Flaschen für benutzte Reagenzien wie nachfolgend beschrieben. Auch wenn Ihr System so konfiguriert ist, dass benutzte Reagenzien extern weitergeleitet werden, sammelt die kleine Flasche benutzte Reagenzien und die große Flasche muss eingesetzt sein.

 **Diese Reagenzien enthalten potenziell gesundheitsschädliche Chemikalien. Personen können sich durch Einatmen, Verschlucken oder durch Kontakt mit der Haut oder den Augen verletzen. Die Belüftung sollte für den Umgang mit gefährlichen Materialien in Reagenzien geeignet sein. Tragen Sie eine dem Expositionsrisiko entsprechende Schutzausrüstung, insbesondere Schutzbrille, Handschuhe und Laborkittel. Verbrauchte Reagenzien sind als chemische Abfälle zu behandeln. Entsorgen Sie sie daher gemäß den geltenden regionalen, nationalen und lokalen Gesetzen und Vorschriften.** Zusätzliche umwelt-, gesundheits- und sicherheitsbezogene Informationen finden Sie in den Sicherheitsdatenblättern (SDS) unter [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

1. Entfernen Sie die kleine Flasche für benutzte Reagenzien und entsorgen Sie den Inhalt gemäß den in Ihrer Region geltenden Vorschriften. Halten Sie den Inhalt vom Inhalt der anderen Flasche getrennt.
2. Positionieren Sie den kleinen Behälter für benutzte Reagenzien wieder in der Nische.
3. Entfernen Sie die große Flasche für benutzte Reagenzien und entsorgen Sie den Inhalt gemäß den geltenden Vorschriften.
4. Positionieren Sie die große Flasche für benutzte Reagenzien wieder in der Pufferschublade.
5. Ziehen Sie ein neues Paar ungepuderter Handschuhe an.
6. Schließen Sie die Pufferschublade und anschließend die Flüssigkeitskammertüren.  
Die Sensoren und die RFIDs werden überprüft. Die ID jeder Waschlaufkomponente wird auf dem Bildschirm angezeigt.

## Starten des Waschlaufs

1. Aktivieren Sie das Kontrollkästchen, um zu bestätigen, dass beide Flaschen für benutzte Reagenzien leer sind, und wählen Sie anschließend **Start Wash** (Waschlauf starten).  
Der Waschlauf startet und die voraussichtliche Laufdauer wird angezeigt.

 **Werden die Flaschen für benutzte Reagenzien nicht geleert, kann dies den Abbruch des Waschlaufs und das Austreten von Reagenzien zur Folge haben. Letzteres kann das Gerät beschädigen und stellt ein Sicherheitsrisiko dar.**

2. Wählen Sie nach Abschluss des Waschlaufs **Home** (Startseite).
3. Belassen Sie die Verbrauchsmaterialien bis zum nächsten Lauf in ihrer Position.  
Die Sipper bleiben in den SBS- und Clusterkartuschen, wodurch verhindert wird, dass Luft in das System eindringt. Die Sipper in der Pufferkartusche werden angehoben, sodass die Flaschen für benutzte Reagenzien geleert werden können.

## Software-Updates

Software-Updates sind für NVCS-Version 1.4 und höher verfügbar. Software-Updates können über die NVCS heruntergeladen und installiert werden. Die automatische Suche nach Software-Updates ist standardmäßig aktiviert. Unter „Settings“ (Einstellungen) können Sie automatische Updates aktivieren oder deaktivieren.

**i** | Das NovaSeq 6000 muss mit dem Internet verbunden sein, um nach Software-Updates zu suchen und diese herunterzuladen.

Die automatische Suche nach Updates wird alle 24 Stunden durchgeführt. Steht ein Update zur Verfügung, wird im Hauptmenü eine Benachrichtigung angezeigt. Die Updatebenachrichtigung wird allen Benutzern angezeigt, jedoch kann nur der Administrator Updates herunterladen und installieren.

Stellen Sie beim NovaSeq Xp-Workflow sicher, dass die NVCS-Version die in der folgenden Tabelle aufgeführten Software-Mindestanforderungen erfüllt, bevor Sie die Proben oder Verbrauchsmaterialien vorbereiten.

Tisch 12 Software-Mindestanforderungen

Fließzelle	Für Reagenzien-Kits der Version 1.0 mindestens erforderliche Softwareversion	Für Reagenzien-Kits der Version 1.5 mindestens erforderliche Softwareversion
SP	1,6	1,7
S1	1.3.1	1,7
S2	Alle	1,7
S4	1.2.0	1,7

**i** | Sie können die Software nicht aktualisieren, wenn ein Sequenzierungslauf, ein Waschlauf oder eine Laufkonfiguration ausgeführt wird oder wenn eine Datei an den Ausgabeordner oder an BaseSpace Sequence Hub übertragen wird. Aktualisieren Sie, wenn ein NovaSeq Xp-Workflow durchgeführt wird, die Software erst, nachdem die Bibliotheken auf die Fließzelle geladen wurden und die Sequenzierung abgeschlossen ist.

Gehen Sie wie folgt vor, um manuell nach Updates zu suchen oder um ein Update herunterzuladen und zu installieren.

1. Wählen Sie im Hauptmenü die Option **Software Update** (Software-Aktualisierung). Der Bildschirm „Software Update“ (Software-Aktualisierung) mit Versionshinweisen zum verfügbaren Update wird angezeigt. Wenn die automatische Suche nach Software-Updates nicht aktiviert ist, können Sie manuell nach Updates suchen oder die automatische Suche aktivieren.

2. Um ein Update herunterzuladen oder zu installieren, aktivieren Sie das Kontrollkästchen, um zu bestätigen, dass der Download und die Installation ungefähr 30 Minuten dauern.
3. Wählen Sie **Download and Install** (Herunterladen und installieren).  
Wenn der Download abgeschlossen ist, wird NVCS geschlossen und das Installationsprogramm gestartet. Gehen Sie gemäß den Anweisungen des Installationsprogramms vor, um die Installation abzuschließen.  
Sollten während des Downloads oder der Installation Fehler auftreten, wenden Sie sich an den technischen Support von Illumina.

# Fehlerbehebung

## Ressourcen für die Fehlerbehebung

Besuchen Sie bei technischen Fragen die [NovaSeq 6000-Sequenziersystem-Support-Seite auf der Website von Illumina](#). Die Unterstützungsseite bietet Zugriff auf Dokumentation, Downloads und häufig gestellte Fragen. Melden Sie sich für den Zugang zu Unterstützungsbulletins bei Ihrem MyIllumina-Konto an.

Wenden Sie sich bei Problemen mit der Laufqualität oder der Leistung an den technischen Support von Illumina. Es wird empfohlen, einen Link zur Lauf-Zusammenfassung in BaseSpace Sequence Hub für den technischen Support von Illumina freizugeben, um die Fehlerbehebung zu erleichtern.

## Dateien für die Fehlerbehebung

Schlüsseldatei	Ordner	Description (Beschreibung)
Laufinformationsdatei (RunInfo.xml)	Stammordner	Enthält die Laufeinstellungen: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anzahl der Zyklen im Lauf</li> <li>• Anzahl der Reads im Lauf</li> <li>• Angabe, ob der Read indiziert ist</li> <li>• Anzahl der Bildstreifen und Platten auf der Fließzelle</li> </ul>
Laufparameterdatei (RunParameters.xml)	Stammordner	Enthält den Laufnamen und Informationen zu den Laufparametern und Laufkomponenten, einschließlich der folgenden RFID-Angaben: Seriennummern, Chargennummern, Verfallsdaten und Katalognummern.
InterOp-Dateien (*.bin)	InterOp	Binäre Berichtsdateien, die für Sequencing Analysis Viewer verwendet werden. InterOp-Dateien werden während des Laufs aktualisiert.
Protokolldateien	Logs	Protokolldateien beschreiben jeden vom Gerät für jeden Zyklus durchgeführten Schritt, einschließlich der benutzten Reagenzien, und listen die Software- und Firmware-Versionen auf, die beim Lauf verwendet wurden. Die Datei mit dem Namen [InstrumentName]_CurrentHardware.csv listet die Seriennummern der Gerätekomponenten auf.

## Fehler beim Selbsttest

Wenn beim Selbsttest ein Fehler auftritt, gehen Sie wie nachfolgend beschrieben vor, um ihn zu beheben. Wenn Sie einen Lauf mit zwei Fließzellen einrichten und eine Seite ausfällt, können Sie die fehlerhafte Seite abbrechen und mit der Seite fortfahren, die den Selbsttest bestanden hat.

Wenn ein Selbsttest fehlschlägt, werden die RFIDs für die Fließzelle, die Reagenzien und die Puffer nicht gesperrt, sodass die Verbrauchsmaterialien in einem nachfolgenden Lauf verwendet werden können. Wenn der Lauf gestartet wurde, perforieren die Sipper die Verschlussfolien auf den Reagenzienkartuschen und alle RFID werden gesperrt.

Systemprüfung	Fehlerursache	Empfohlene Aktion
Laden der Fließzelle	Die Fließzelle rastet nicht ein oder das System kann den RFID-Tag nicht lesen.	Überprüfen und reinigen Sie die Fließzelle und den Fließzellentisch und laden Sie die Fließzelle dann neu.
Sensoren	Eine Kammertür ist offen, ein Verbrauchsmaterial ist nicht ordnungsgemäß geladen oder mindestens ein Sensor funktioniert nicht.	Wählen Sie „ <b>Retry</b> “ (Wiederholen) und befolgen Sie die Eingabeaufforderungen auf dem Bildschirm, um den Fehler zu beheben.
Speicherplatz	Der Speicherplatz reicht nicht aus, weil der angegebene Ort des Ausgabeordners voll ist.	Geben Sie im Bildschirm „Process Management“ (Prozessverwaltung) Speicherplatz am angegebenen Speicherort des Ausgabeordners frei.
Systemkonnektivität	Die Verbindung zu RTA3, dem Fluidiksystem oder eine andere Verbindung wurde unterbrochen.	Wählen Sie „ <b>Retry</b> “ (Wiederholen) und befolgen Sie die Eingabeaufforderungen auf dem Bildschirm, um den Fehler zu beheben.
Alignment	Die Position der Fließzelle verhindert die Bildgebung.	Befolgen Sie die Anweisungen auf dem Bildschirm, um die Fließzelle neu zu laden.

## Auffangschale

In den Boden des Geräts ist eine Auffangschale integriert, um ausgelaufene Reagenzien oder Kühlmittel und den Überlauf von den Flaschen für benutzte Reagenzien aufzufangen. Unter normalen Bedingungen ist die Auffangschale trocken. Auslaufende Flüssigkeiten weisen auf ein Problem mit dem

Gerät hin. Zu einem Überlauf kommt es, wenn die Flaschen für benutzte Reagenzien nicht regelmäßig geleert werden.

Während des Selbsttests erkennen Sensoren, wenn die Auffangschale Flüssigkeiten enthält:

- Wenn die Auffangschale Flüssigkeit enthält, jedoch nicht voll ist, kann der Lauf fortgesetzt werden. Sie müssen sich jedoch an den technischen Support von Illumina wenden.
- Wenn die Auffangschale voll ist, kann der Lauf nicht fortgesetzt werden und Sie müssen sich an den technischen Support von Illumina wenden.

**!** Leeren Sie die Flaschen für benutzte Reagenzien bei *jedem Lauf*. Läufe werden angehalten, wenn eine der Flaschen für benutzte Reagenzien voll ist. Das Überlaufen einer der Flaschen für benutzte Reagenzien hat eine Beschädigung des Geräts zur Folge, erfordert einen Besuch vor Ort durch einen Vertreter von Illumina und stellt ein Sicherheitsrisiko dar.

## Fehlerbehebung bei der Prozessverwaltung

In der folgenden Tabelle sind Fehlerbehebungsoptionen für das N/A-Symbol auf dem Bildschirm „Process Management“ (Prozessmanagement) angegeben:

- Das N/A-Symbol wird in der Spalte „BaseSpace“ angezeigt und der Lauf ist zum Hochladen auf BaseSpace Sequence Hub konfiguriert.
- Das N/A-Symbol wird in der Spalte „Network“ (Netzwerk) angezeigt und der Lauf ist zum Hochladen eines Ausgabebearbeiters im Netzwerk konfiguriert.

Laufstatus	Maßnahme zur Fehlerbehebung
Es wird ein Lauf ausgeführt.	Schließen Sie den Bildschirm „Process Management“ (Prozessmanagement), warten Sie etwa fünf Minuten und öffnen Sie den Bildschirm erneut.
Es wird kein Lauf ausgeführt.	Schalten Sie das Gerät ab und starten Sie es neu. Öffnen Sie dann noch einmal den Bildschirm „Process Management“ (Prozessverwaltung).

Wenn das N/A-Symbol nach Ausführen der Maßnahme zur Fehlerbehebung weiterhin angezeigt wird, wenden Sie sich an den technischen Support von Illumina.

## Lauffehler vor Clustering

Wenn die Software vor Starten der Clusterbildung für den Lauf einen Fehler ausgibt, können Sie die Reagenzienkartuschen, das Bibliotheksröhrchen (einschließlich der Probe) und, bei sofortiger Wiederverwendung, die Fließzelle für einen neuen Lauf aufbewahren. Wenn die Clusterbildung startet, perforieren die Sipper die Verschlussfolien und die Reagenzien werden in das Bibliotheksröhrchen und auf die Fließzelle gegeben. Daher können die Verbrauchsmaterialien und die Bibliotheken nicht für einen anderen Lauf wiederverwendet werden.

Sie haben zwei Möglichkeiten, einen neuen Lauf mit den Reagenzienkartuschen, dem Bibliotheksröhrchen und der Fließzelle des fehlgeschlagenen Laufs zu konfigurieren:

- **Sofort einen neuen Lauf einrichten:** Richten Sie einen neuen Lauf innerhalb von vier Stunden nach dem fehlgeschlagenen Lauf ein. Die Reagenzienkartuschen, das Bibliotheksröhrchen und die Fließzelle bleiben geladen.
  - i** | Starten Sie den neuen Lauf im NovaSeq Xp-Workflow so schnell wie möglich, um optimale Ergebnisse zu erzielen.
- **Später einen neuen Lauf einrichten:** Richten Sie einen neuen Lauf innerhalb von drei Wochen nach dem fehlgeschlagenen Lauf ein. Die Reagenzienkartuschen und das Bibliotheksröhrchen werden aus dem Gerät entladen und aufbewahrt. Die aufbewahrten Verbrauchsmaterialien sollten mit dem Datum beschriftet und unter den ursprünglichen Bedingungen gelagert werden.
  - i** | Die Fließzelle kann nicht wiederverwendet werden und ist zu entsorgen. Fordern Sie beim technischen Support von Illumina eine Ersatzfließzelle an.

## Umgehendes Einrichten eines neuen Laufs

Starten Sie bei einem fehlgeschlagenen Lauf im NovaSeq Xp-Workflow den neuen Lauf so schnell wie möglich, um optimale Ergebnisse zu erzielen.

1. Wenn der Lauf fehlschlägt und die andere Geräteseite nicht benutzt wird, starten Sie das Gerät neu. Wählen Sie andernfalls „**Home**“ (Start) aus.
2. Richten Sie einen neuen Lauf ein.
3. Entnehmen Sie die derzeit eingesetzte Fließzelle nicht.
4. Öffnen und schließen Sie die Reagenzienkühlertür und die Pufferschublade, damit NVCS die RFID der Reagenzienkartusche neu einliest.  
Die Kartuschen, das Bibliotheksröhrchen und die Fließzelle können nach einem fehlgeschlagenem Lauf bis zu vier Stunden lang im Gerät verbleiben.
5. Leeren Sie die Flaschen für benutzte Reagenzien und setzen Sie sie wieder in das Gerät ein.
6. Fahren Sie mit der Laufeinrichtung fort.

## Später einen neuen Lauf konfigurieren

1. Schlägt der Lauf fehl, wählen Sie **Home** (Start).
2. Konfigurieren Sie einen neuen Lauf oder einen Wartungswaschlauf, um die Verbrauchsmaterialien aus dem Gerät zu entfernen.
3. Entfernen Sie bei Aufforderung die folgenden Verbrauchsmaterialien und lagern Sie sie ein:
  - Verschließen Sie das Bibliotheksröhrchen mit der Kappe. Es kann bei -25 °C bis -15 °C für bis zu drei Wochen gelagert werden.
  - Lagern Sie die SBS- und Clusterkartuschen wieder bei -25 °C bis -15 °C ein.

- Lagern Sie die Pufferkartusche lichtgeschützt bei Raumtemperatur ein.  
Nicht durchstochene Kartuschen können in einem neuen Lauf wiederverwendet werden.
4. Wählen Sie **End** (Beenden), um den Lauf oder Wartungswaschlauf abzubrechen. Wählen Sie dann **Yes** (Ja), um den Befehl zu bestätigen.  
Sie können warten, bis der Wartungswaschlauf abgeschlossen ist, statt ihn abzubrechen.

## Beenden eines Laufs

Das Beenden eines Laufs auf dem NovaSeq 6000-System ist *endgültig*. Die Software kann den Lauf nicht fortsetzen oder Sequenzierungsdaten speichern und Verbrauchsmaterialien können nicht wiederverwendet werden.

1. Wählen Sie „**End**“ (Beenden) und anschließend „**Yes**“ (Ja) aus, um den Befehl zu bestätigen.  
Wenn der Lauf nach Read 1 beendet wurde, startet die Software die automatische Nachwaschung.
2. Wählen Sie bei Aufforderung eine der folgenden Waschlaufoptionen aus:
  - **End Run Without Wash** (Lauf ohne Waschlauf beenden): Beendet den Lauf und startet den Wartungswaschlauf.
  - **End Run and Wash** (Lauf beenden und Waschlauf durchführen): Beendet den Lauf und führt eine automatische Nachwaschung durch.
  - **Cancel** (Abbrechen): Der aktuelle Lauf wird fortgesetzt.Wird der Lauf zwischen dem Abschluss der Clusterbildung und dem Abschluss von Read 1 beendet, zeigt die Software die Waschlaufoptionen an. Andernfalls startet die Software die automatische Nachwaschung.
3. Wenn Sie „End Run Without Wash“ (Lauf ohne Waschlauf beenden) auswählen, fordert die Software Sie zur Konfiguration eines Wartungswaschlaufs auf.

## Ausschalten des Geräts

Durch Ausschalten des Geräts werden die gesamte Software und alle Systeme sicher heruntergefahren und das Gerät wird ausgeschaltet. Die Statusleiste ändert die Farbe von Grün auf Weiß und zeigt so an, dass der Ausschaltvorgang durchgeführt wird.

Unter normalen Umständen ist das Ausschalten des Geräts nicht erforderlich.

Nach jedem Absturz einer Software muss das Gerät vollständig ausgeschaltet und neu gestartet werden.

Wenn das Gerät ausgeschaltet oder neu gestartet werden soll, während NVCS ausgeführt wird, muss der Benutzer diesen Vorgang zunächst bestätigen.

1. Wählen Sie in im Hauptmenü **Shutdown Instrument** (Gerät ausschalten).
2. Stellen Sie den Netzkippschalter auf der Rückseite des Geräts in die Position „Off“ (Aus), nachdem auf dem Bildschirm nichts mehr angezeigt wird.
3. Warten Sie mindestens 60 Sekunden, bevor Sie das Gerät erneut einschalten.

- ! | Bewegen Sie das Gerät nicht an einen anderen Standort. Unsachgemäßes Bewegen kann die Justierung der Optik und die Datenintegrität beeinträchtigen. Wenden Sie sich an Ihren Illumina-Ansprechpartner für Hilfe bei der Standortverlegung.

# Real-Time Analysis

## Überblick über Real-Time Analysis

Auf dem NovaSeq 6000-Sequenziersystem wird RTA3, eine Implementierung der Real-Time Analysis-Software, auf der Compute Engine (CE) des Instruments ausgeführt. RTA3 extrahiert Intensitäten aus Bildern, die von der Kamera empfangen werden, führt Base-Calling durch, weist Base-Calls einen Qualitäts-Score zu, richtet sich an PhiX aus und meldet Daten in InterOP-Dateien im Sequenzierungsanalyse-Viewer.

Zur Optimierung der Verarbeitungszeit legt RTA3 die Informationen im Speicher ab. Wenn RTA3 beendet wird, wird die Verarbeitung nicht wieder aufgenommen, und alle Laufdaten, die im Speicher verarbeitet werden, gehen verloren.

### RTA3-Eingaben

RTA3 erfordert zur Verarbeitung Plattenbilder, die im lokalen Systemspeicher enthalten sind. RTA3 empfängt Laufinformationen und Befehle vom NVCS.

### RTA3-Ausgaben

Bilder von jedem Farbkanal werden gespeichert und als Teilsegmente an RTA3 übergeben. RTA3 gibt von diesen Bildern mehrere hinsichtlich ihrer Qualität ausgewertete Base-Call-Dateien und Filterdateien aus. Alle anderen Ausgaben sind ergänzende Dateien für die Ausgabe.

Dateityp	Description (Beschreibung)
Base-Call-Dateien	Die einzelnen analysierten Teilsegmente sind in einer verknüpften Base-Call-Datei (*.cbcl) enthalten. Teilsegmente derselben Lane oder Oberfläche werden in einer (1) *.cbcl-Datei für die jeweilige Lane und Oberfläche aggregiert.
Filterdateien	Die einzelnen Teilsegmente produzieren jeweils eine Filterdatei (*.filter), die angibt, ob ein Cluster die Filter passiert.
Clusterpositionsdateien	Clusterpositionsdateien (*.locs) enthalten die X- und Y-Koordinaten aller Cluster in einer Platte. Für jeden Lauf wird eine Clusterpositionsdatei generiert.

Ausgabedateien werden für die nachgeschaltete Analyse in BaseSpace Sequence Hub verwendet. Alternativ können Sie die Konvertierungssoftware bcl2fastq für die FASTQ-Konvertierung und Analyselösungen von Drittanbietern verwenden. Für NovaSeq-Dateien ist mindestens Version 2.19 der bcl2fastq2-Konvertierungssoftware erforderlich. Die neueste Version von bcl2fastq2 finden Sie auf der [bcl2fastq-Downloadseite](#) auf der Illumina-Website.

RTA3 stellt Echtzeitkennzahlen zur Laufqualität in Form von InterOp-Dateien zur Verfügung. InterOp-Dateien sind Binärdateien mit Kennzahlen zu Platten, Zyklen und zur Read-Ebene. Sie werden benötigt, um Echtzeitmetriken im Sequenzierungsanalyse-Viewer ansehen zu können. Die neueste Version des Sequenzierungsanalyse-Viewers finden Sie auf der Downloadseite des [Sequenzierungsanalyse-Viewers](#) auf der Illumina-Website.

## Fehlerbehebung

RTA3 erstellt Protokolldateien und speichert sie im Ordner „Logs“ (Protokolle). Fehler werden in einer Textdatei im Dateiformat \*.log aufgezeichnet.

Wenn die Verarbeitung abgeschlossen ist, werden die folgenden Protokolldateien an das endgültige Ausgabeziel übertragen:

- In info\_00000.log ist eine Zusammenfassung wichtiger Laufereignisse enthalten.
- In error\_00000.log werden während des Laufs aufgetretene Fehler protokolliert.
- In warning\_00000.log werden während des Laufs aufgetretene Warnungen protokolliert.

## Fließzellenplatten

Platten sind kleine Bildgebungsbereiche auf der Fließzelle. Die Kamera nimmt ein Bild von jedem Bildstreifen auf, das die Software dann in Platten für die Verarbeitung mit RTA3 unterteilt. Die Gesamtanzahl der Platten hängt davon ab, wie viele Lanes, Bildstreifen und Oberflächen auf der Fließzelle aufgenommen werden.

- SP-Fließzellen verfügen über insgesamt 312 Platten.
- S1-Fließzellen verfügen über insgesamt 624 Platten.
- S2-Fließzellen verfügen über insgesamt 1.408 Platten.
- S4-Fließzellen verfügen über insgesamt 3.744 Platten.

Tisch 13 Fließzellenplatten

Fließzellenkomponente	SP	S1	S2	S4	Description (Beschreibung)
Lanes	2	2	2	4	Eine Lane ist ein physischer Kanal mit Einlass- und Auslassöffnungen.

Fließzellenkomponente	SP	S1	S2	S4	Description (Beschreibung)
Oberflächen	1	2	2	2	Bei S1-, S2- und S4-Fließzellen werden zwei Oberflächen aufgenommen: die obere und die untere. Die obere Oberfläche einer Platte wird zuerst abgebildet. Bei der SP-Fließzelle wird nur die untere Oberfläche aufgenommen.
Bildstreifen pro Lane	2	2	4	6	Ein Bildstreifen ist eine Spalte in einer Fließzellen-Lane, die die Kamera als ein Bild erfasst.
Platten je Bildstreifen	78	78	88	78	Eine Platte ist ein Teil eines Bildstreifens und stellt einen abgebildeten Bereich auf der Fließzelle dar.
Gesamtanzahl generierter Platten	312	624	1.408	3.744	Lanes × Oberflächen × Bildstreifen × Platten je Bildstreifen ergibt die Gesamtanzahl Platten.

## Plattenbenennung

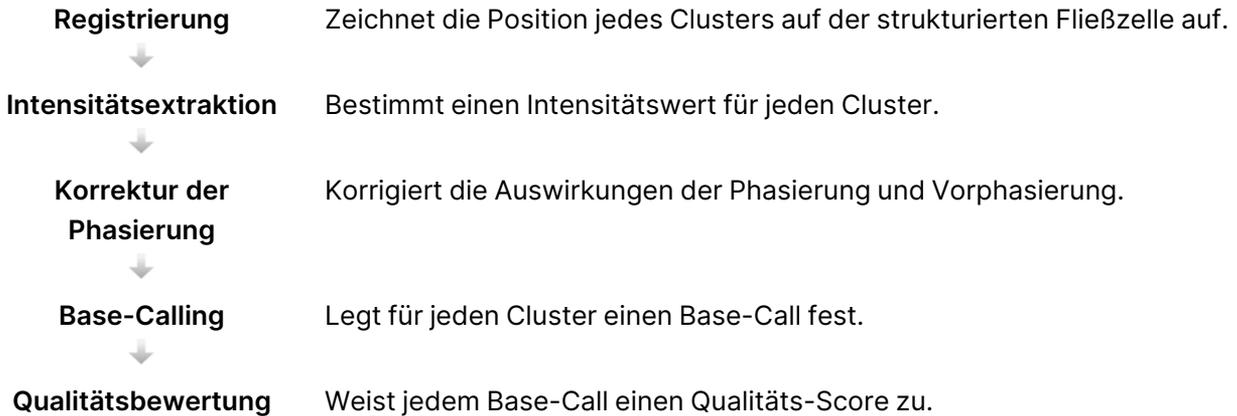
Der Plattenname ist eine fünfstellige Zahl, die die Plattenposition der Fließzelle darstellt. Zum Beispiel gibt der Plattenname

1\_1205 Lane 1, obere Oberfläche, Bildstreifen 2, Platte 5 an.

- Die erste Ziffer gibt die Lane-Nummer an:
  - 1 oder 2 für eine SP-, S1- oder S2-Fließzelle.
  - 1, 2, 3 oder 4 für eine S4-Fließzelle.
- Die zweite Zahl gibt die Oberfläche an: 1 für die Oberseite und 2 für die Unterseite.  
Bei der SP-Fließzelle ist die zweite Ziffer stets 2, da die Fließzelle nur über eine untere Oberfläche verfügt.
- Die dritte Ziffer gibt die Bildstreifennummer an:
  - 1 oder 2 für eine SP- oder S1-Fließzellen.
  - 1, 2, 3 oder 4 für eine S2-Fließzelle.
  - 1, 2, 3, 4, 5 oder 6 für eine S4-Fließzelle.
- Die letzten beiden Ziffern geben die Plattennummer an. Die Plattennummerierung beginnt bei 01 am Auslassende der Fließzelle und reicht bis 88 oder 78 am Einlassende.

- 01 bis 78 für eine SP-, S1- oder S4-Fließzelle.
- 01 bis 88 für eine S2-Fließzelle.

## Real-Time Analysis-Workflow



### Registrierung

Bei der Registrierung wird auf der strukturierten Fließzelle ein Bild auf dem hexagonalen Array mit Nanowells ausgerichtet. Aufgrund der geordneten Struktur der Nanowells sind die X- und Y-Koordinaten der einzelnen Cluster einer Platte vorbestimmt. Die Clusterpositionen des jeweiligen Laufs werden in einer Clusterpositionsdatei (s.locs) gespeichert.

Wenn die Registrierung für ein Bild in einem Zyklus fehlschlägt, werden für diese Platte in diesem Zyklus keine Base-Calls erzeugt. Mithilfe des Sequenzierungsanalyse-Viewers können Sie bestimmen, welche Bilder die Registrierung nicht bestanden haben.

### Intensitätsextraktion

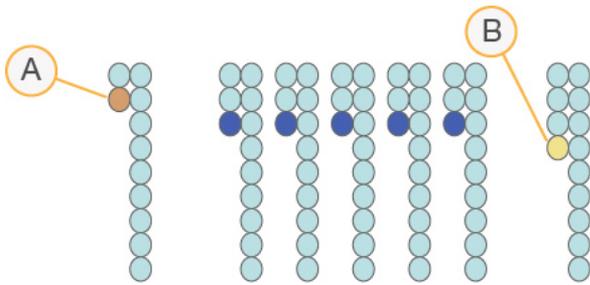
Nach der Registrierung berechnet die Intensitätsextraktion einen Intensitätswert für jeden Nanowell in einem bestimmten Bild. Schlägt die Registrierung fehl, kann die Intensität für diese Platte nicht extrahiert werden.

### Korrektur der Phasierung

Während der Sequenzierungsreaktion erweitert sich jeder DNA-Strang in einem Cluster um eine Base pro Zyklus. Die Phasierung und Vorphasierung finden statt, wenn eine Phasenverschiebung eines Strangs mit dem aktuellen Inkorporationszyklus eintritt.

- Eine Phasierung tritt ein, wenn eine Base zurückfällt.
- Eine Vorphasierung tritt ein, wenn eine Base vorseilt.

Abbildung 32 Phasierung und Vorphasierung



- A. Read mit einer phasierenden Base
- B. Read mit einer vorphasierenden Base

RTA3 korrigiert die Auswirkungen der Phasierung und der Vorphasierung, sodass bei jedem Zyklus des Laufs eine maximale Datenqualität erzielt wird.

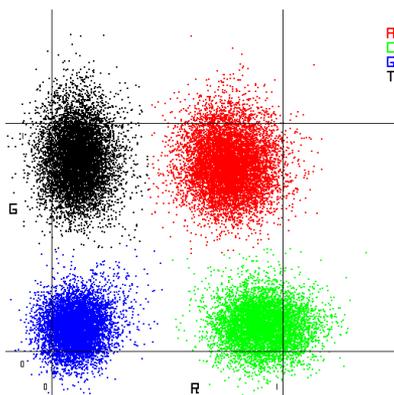
### Base-Calling

Beim Base-Calling wird eine Base (A, C, G oder T) für jeden Cluster einer bestimmten Platte eines bestimmten Zyklus festgelegt. Das NovaSeq 6000-Sequenziersystem verwendet ein Zweikanal-Sequenzierungssystem, bei dem nur zwei Bilder benötigt werden, um die Daten für vier DNA-Basen zu codieren: ein Bild aus dem roten und ein Bild aus dem grünen Kanal.

Das Ergebnis „No-Call“ wird als N identifiziert. „No-Calls“ treten auf, wenn Cluster die Filter nicht passieren, die Registrierung fehlschlägt oder Cluster außerhalb des Bildes verschoben werden.

Intensitäten für jeden Cluster werden aus den roten und grünen Bildern extrahiert und miteinander verglichen. Dies ergibt vier verschiedene Populationen. Jede Population entspricht einer Base. Der Base-Calling-Prozess bestimmt, zu welcher Population jeder Cluster gehört.

Abbildung 33 Darstellung der Clusterintensitäten



Tisch 14 Base-Calls bei einer Zweikanal-Sequenzierung

Base	Roter Kanal	Grüner Kanal	Ergebnis
A	1 (ein)	1 (ein)	Cluster, die Intensitäten sowohl im roten als auch im grünen Kanal aufweisen.
C	1 (ein)	0 (aus)	Cluster, die Intensitäten nur im roten Kanal aufweisen.
G	0 (aus)	0 (aus)	Cluster, die keine Intensitäten bei einer bekannten Clusterposition aufweisen.
T	0 (aus)	1 (ein)	Cluster, die Intensitäten nur im grünen Kanal aufweisen.

## Cluster nach Filterung

Während des Laufs filtert RTA3 Rohdaten, um Reads zu entfernen, die dem Schwellenwert für Datenqualität nicht genügen. Überlappende Cluster sowie Cluster niedriger Qualität werden entfernt.

Bei der Zweikanalanalyse verwendet RTA3 ein populationsbasiertes System zum Feststellen der Reinheit (Reinheitsmessung der Intensität) eines Base-Calls. Cluster passieren Filter (PF), wenn in den ersten 25 Zyklen höchstens ein Base-Call eine Reinheit unter einem festen Schwellenwert aufweist. Das PhiX-Alignment wird im Zyklus 26 für eine Teilmenge von Platten für Cluster durchgeführt, die die Filter passiert haben. Für Cluster, die die Filter nicht passieren, erfolgt kein Base-Call und kein Alignment.

## Qualitäts-Scores

Ein Qualitäts-Score (Q-Score) ist eine Prognose über die Wahrscheinlichkeit eines falschen Base-Calls. Je höher der Q-Score ist, desto höher ist die Qualität des Base-Calls und die Wahrscheinlichkeit, dass dieser korrekt ist. Nachdem der Q-Score ermittelt wurde, werden die Ergebnisse in Base-Call-Dateien (\*.cbcl) gespeichert.

Der Q-Score kommuniziert kurz und bündig kleine Fehlerwahrscheinlichkeiten. Qualitäts-Scores werden als Q(X) dargestellt, wobei X der Score-Wert ist. Die folgende Tabelle zeigt die Beziehung zwischen einem Qualitäts-Score und der Fehlerwahrscheinlichkeit:

Q-Score Q(X)	Fehlerwahrscheinlichkeit
Q40	0,0001 (1 von 10.000)
Q30	0,001 (1 von 1000)
Q20	0,01 (1 von 100)
Q10	0,1 (1 von 10)

## Qualitätsbewertung und Berichterstellung

Die Qualitätsbewertung berechnet für jeden Base-Call mehrere Fehlerwahrscheinlichkeiten und ermittelt anhand der Prognosewerte den Q-Score aus einer Qualitätstabelle. Qualitätstabellen werden erstellt, um optimale Qualitätsprognosen für Läufe zu liefern, die auf spezifisch konfigurierten Sequenzierungsplattformen mit bestimmten Chemie-Versionen durchgeführt werden.

**i** | Die Qualitätsbewertung basiert auf einer geänderten Version des Phred-Algorithmus.

RTA3 weist jedem Base-Call einen von drei Qualitäts-Scores zu, basierend auf der Zuverlässigkeit des Base-Calls. Dieses Berichterstellungsmodell für Q-Score verringert die Speicherplatz- und Bandbreitenanforderungen, ohne dabei die Genauigkeit oder die Performance zu beeinträchtigen.

Weitere Informationen zur Qualitätsbewertung finden Sie in der Veröffentlichung *NovaSeq™ 6000 System Quality Scores and RTA3 Software (Pub.-Nr. 770-2017-010)*.

# Ausgabeordner und -dateien

## Ordnerstruktur der Sequenzierungsausgabe-Daten

Der NVCS generiert den Namen des Ausgabeordners automatisch.

 **Config:** Enthält Konfigurationsdateien für den Lauf.

 **Logs:** Enthält Protokolldateien, die Betriebsschritte, Geräteanalysen und RTA3-Ereignisse beschreiben.

 **Data**

 **Intensities**

 **BaseCalls**

 **L00[X]:** Base-Call-Dateien (\*.cbcl), zusammengefasst in einer Datei je Lane, Oberfläche und Zyklus.

 `s.l0cs` – Die Cluster-Positionsdatei für den Lauf.

 **InterOp:** Vom Sequenzierungsanalyse-Viewer (SAV) verwendete Binärdateien.

 **Recipe:** Laufspezifische Rezepturdatei.

 **Thumbnail Images:** Miniaturbilder für jede zehnte Platte.

 **LIMS:** Die Laufeinrichtungsdatei (\*.json), falls zutreffend.

 `RTA3.cfg`

 `RunInfo.xml`

 `RunParameters.xml`

 `RTAComplete.txt`

 `CopyComplete.txt`

 `SampleSheet.csv` – Probenblatt oder eine andere angehängte Datei, falls zutreffend.

 `SequenceComplete.txt`

## Ausgabedateien der Sequenzierung

Dateityp	Dateibeschreibung, Speicherort und Name
Base-Call-Dateien	<p>Jedes analysierte Cluster wird in eine Base-Call-Datei aufgenommen, zusammengefasst in einer Datei pro Zyklus, Lane und Oberfläche. Die zusammengefasste Datei enthält den Base-Call und den codierten Qualitäts-Score für jeden Cluster. Die Base-Call-Dateien werden von BaseSpace Sequence Hub oder bcl2fastq2 verwendet.</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 L[Lane]_[surface].cbcl, z. B. L001_1.cbcl</p>
Clusterpositionsdateien	<p>Für jede Fließzelle enthält eine binäre Clusterpositionsdatei die XY Koordinaten für jeden Cluster in einem Teilsegment. Eine sechseckige Anordnung, die der Nanowell-Anordnung der Fließzelle entspricht, definiert die Koordinaten vor.</p> <p>Data\Intensities s_[lane].locs</p>
Filterdateien	<p>Die Filterdatei gibt an, ob ein Cluster die Filter passiert hat. Filterdateien werden bei Zyklus 26 generiert und verwenden 25 Datenzyklen. Für jedes Teilsegment wird eine Filterdatei erstellt.</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane]_[tile].filter</p>
InterOp-Dateien	<p>Binäre Berichtsdateien, die für Sequencing Analysis Viewer verwendet werden. InterOp-Dateien werden während des Laufs aktualisiert.</p> <p>InterOp-Ordner</p>
Laufinformationsdatei	<p>Enthält den Namen des Laufs, die Anzahl der Zyklen in jedem Read, die Angabe, ob der Read ein Index-Read ist, sowie die Anzahl der Bildstreifen und Teilsegmente auf der Fließzelle. Die Laufinformationsdatei wird am Anfang des Laufs generiert.</p> <p>[Root folder], RunInfo.xml</p>
Miniaturbilddateien	<p>Ist die Funktion aktiviert, wird ein Miniaturbild für jede 10. Platte in jedem Farbkanal (rot und grün) erstellt.</p> <p>Thumbnail_Images\L001\C[X.1]: Für jeden Zyklus werden Dateien in einem Unterordner gespeichert.</p> <p>s_[lane]_[tile]_[channel].jpg: Das Miniaturbild enthält die Plattennummer.</p>

# Windows-Sicherheit

## Kennwortanforderungen

In der folgenden Tabelle sind die erforderlichen Kennwortrichtlinien für den Steuerungscomputer dargestellt. Die Software fordert Sie bei der ersten Anmeldung auf, das Kennwort zu ändern.

Tisch 15 Standardkennwortrichtlinien

Richtlinie	Sicherheitseinstellung
Kennwortchronik erzwingen	5 gespeicherte Kennwörter
Maximales Kennwortalter	180 Tage
Minimales Kennwortalter	0 Tage
Mindestkennwortlänge	10 Zeichen
Kennwort muss Komplexitätsvoraussetzungen entsprechen	Deaktiviert
Kennwörter mit umkehrbarer Verschlüsselung speichern	Deaktiviert

## Windows-Firewall

Die Windows-Firewall schützt den Steuerungscomputer durch das Filtern von eingehendem Datenverkehr, um potenzielle Bedrohungen auszuschließen. Die Firewall ist standardmäßig aktiviert, um alle eingehenden Verbindungen zu blockieren. Lassen Sie die Firewall aktiviert und lassen Sie ausgehende Verbindungen zu. Weitere Informationen zu Ausgabeverbindungen finden Sie im *NovaSeq-Serie Handbuch zur Standortvorbereitung (Dokument-Nr. 1000000019360)*.

## Enhanced Mitigation Experience Toolkit

Das Enhanced Mitigation Experience Toolkit (EMET) beugt der Ausnutzung von Softwareschwachstellen vor und stellt die Funktion „Certificate Trust“ bereit. Die Funktion entdeckt und unterbindet Angriffe, die schädliche Zertifikate verwenden.

## Software Restriction Policies

Die Windows-Richtlinien für Softwareeinschränkung (SRP) wenden Regeln an, um die Ausführung nur von bestimmter Software zuzulassen. Beim NovaSeq 6000 basieren SRP-Regeln auf Zertifikaten, Dateinamen und -erweiterungen sowie Verzeichnissen.

Die SRP sind standardmäßig aktiviert, um zu verhindern, dass auf dem Steuerungscomputer unerwünschte Software ausgeführt wird. Ein IT-Beauftragter oder ein Systemadministrator kann Regeln hinzufügen und entfernen, um die Sicherheitsstufe anzupassen. Wenn das System einer Domäne hinzugefügt wird, kann das lokale Gruppenrichtlinienobjekt (Group Policy Object, GPO) die Regeln automatisch ändern und die SRP deaktivieren.

 Das Deaktivieren der Richtlinie für Softwareeinschränkung verhindert den Schutz, den sie bietet. Das Ändern der Regeln überschreibt die Standardschutzvorkehrungen.

## Zulässige SRP-Regeln

Auf dem NovaSeq 6000-Sequenziersystem lassen die SRP standardmäßig die folgenden Regeln zu.

### **Zertifikate**

DigitalSystems

Illumina, Inc.

NovaSeq

### **Ausführbare Dateien**

Portmon.exe

Procmon.exe

Procmon64.exe

Tcpview.exe

### **Dateierweiterungen**

\*.bin

\*.cbcl

\*.cfg

\*.config

\*.csv

\*.dat

\*.focus

\*.imf1

\*.ims

\*.jpg

\*.json

\*.lnk

\*.locs

\*.log

\*.manifest

\*.sdf

\*.tif

\*.txt

## Dateierweiterungen

\*.xml

## Verzeichnisse

```
%HKEY_LOCAL_
MACHINE\SOFTWARE\Microsoft\Windows\CurrentVersion\ProgramFilesDir%
%HKEY_LOCAL_MACHINE\SOFTWARE\Microsoft\Windows
NT\CurrentVersion\SystemRoot%
C:\CrashDumps\*
C:\Illumina\*
C:\Illumina Maintenance Logs\*
C:\LocalSymbols\*
C:\Program Files (x86)\Chromium\Application\*
C:\Program Files (x86)\EMET 5.5\*
C:\Program Files (x86)\Illumina\*
C:\Program Files (x86)\Internet Explorer\*
C:\Program Files (x86)\LibreOffice 5\*
C:\Program Files\Illumina\*
C:\ProgramData\Illumina\*
C:\ProgramData\Package Cache\*
C:\Users\sbsuser\AppData\Local\Temp\Citrix\*
C:\Users\sbsuser\AppData\Local\Temp\CitrixLogs\*
C:\Users\sbsuser\Desktop\FSE turn over to customer.bat
D:\Illumina\*
```

## Hinzufügen und Entfernen von SRP-Regeln

Sie können SRP-Regeln hinzufügen und entfernen, um die Systemsicherheit anzupassen. Zum Ändern der Regeln müssen Sie SRP vorübergehend deaktivieren. Anweisungen zum Hinzufügen und Entfernen von SRP-Regeln finden Sie unter [Sicherheit und Netzwerk](#).

# Erwägungen zum NextSeq 6000Dx- Forschungsmodus

## Einleitung

Das NovaSeq 6000Dx-Sequenzierungssystem verfügt über zwei separate Betriebsarten: *den In-vitro*-Diagnosemodus (IVD) und den RUO-Modus (Research Use Only – Nur zu Forschungszwecken). Im RUO-Modus können Sie einen Lauf manuell erstellen oder einen vorgeplanten Lauf aus mehreren Quellen auswählen.

Illumina Run Manager ist nur eine Funktion des NovaSeq 6000Dx-Instruments. Anweisungen zum Erstellen eines geplanten Laufs im Illumina Run Manager oder im IVD-Modus finden Sie im *NovaSeq 6000Dx Instrument-Produktdokumentation (Dokument-Nr. 200010105)*.

Im manuellen RUO-Modus gelten die Anweisungen in diesem Handbuch für das NovaSeq 6000Dx-Instrument mit folgenden Ausnahmen:

- Kompatibilität der Verbrauchsmaterialien
- Gerätemodusanzeigen
- Wartungswaschverfahren

## NovaSeq 6000Dx Lauf-Planungsoptionen

Es gibt mehrere Optionen zur Planung eines Laufs auf dem NovaSeq 6000Dx-Gerät.

- **Manuell:** Geben Sie die Laufinformationen manuell ein. Nur verfügbar, wenn sich das Gerät im RUO-Modus befindet. Siehe [Konfigurieren eines Sequenzierungslaufs auf Seite 55](#).
- **LIMS:** Wählen Sie einen Lauf von einem LIMS-Server oder einem dateibasierten LIMS aus. Nur verfügbar, wenn sich das Gerät im RUO-Modus befindet. Siehe [Laufkonfigurationsmodi auf Seite 30](#).
- **Illumina Run Manager:** Planen Sie einen Lauf auf dem DRAGEN-Server mit Illumina Run Manager. Verfügbar im IVD- oder RUO-Modus. Weitere Informationen zu dieser Methode, DRAGEN-Server und Illumina Run Manager finden Sie im *NovaSeq 6000Dx Instrument-Produktdokumentation (Dokument-Nr. 200010105)*.

## Kompatibilität der NovaSeq 6000Dx-Verbrauchsmaterialien

Die Durchführung eines Sequenzierungslaufs auf dem NovaSeq 6000Dx-Gerät erfordert ein Einweg-NovaSeq 6000Kit oder NovaSeq 6000Dx-Kit, eine Pufferkartusche und ein Bibliotheksröhrchen. Sie können NovaSeq 6000Dx-Verbrauchsmaterialien für einen RUO-Moduslauf verwenden. NovaSeq 6000-Verbrauchsmaterialien können nicht für einen IVD-Moduslauf verwendet werden.

## NovaSeq 6000Dx-Gerätemodusanzeigen

Das NovaSeq 6000Dx-Gerät verfügt über eine Umschalttaste auf dem Startbildschirm, mit der zwischen dem RUO-Modus und dem IVD-Modus gewechselt werden kann. Wenn das NovaSeq 6000Dx-Gerät in den RUO-Modus umgeschaltet wird, verwenden Sie die Optionsschaltflächen, um den geplanten Modus oder den manuellen Modus auszuwählen.

Die folgende Tabelle enthält die Gerätemodusanzeigen auf dem Home-Bildschirm.

Modus	Farbleiste
IVD-Modus	Grau
RUO-Modus	Blau

# Quellen und Verweise

Im [NovaSeq Support auf der Support-Seite](#) im Internet Illumina finden Sie weitere Ressourcen. Vergewissern Sie sich stets auf den Support-Websites, dass Sie über die aktuellen Versionen verfügen.

## Versionsverlauf

Dokument	Datum	Beschreibung der Änderung
Material- Nr. 20023471 Dokument- Nr. 1000000019358 v18	April 2025	Aktualisierte Verweise auf Betriebssystemkonteninformationen. Es wurde eine Anleitung hinzugefügt, dass SBS- und Cluster-Kartuschen nach dem Auftauen bis zu einmal wieder eingefroren werden können. Fehlersuche-Anleitung für Fehler beim Laden der Fließzelle hinzugefügt. Anleitung zur Inspektion von SBS-Kartuschen auf Risse beim Entfernen aus der Verpackung hinzugefügt.
Material- Nr. 20023471 Dokument- Nr. 1000000019358 v17	September 2022	Überlegungen zum NovaSeq 6000Dx-Forschungsmodus hinzugefügt.
Material- Nr. 20023471 Dokument- Nr. 1000000019358 v16	Juni 2022	Falsche Anweisungen zur Vorbereitung der Clusterkartusche entfernt.
Material- Nr. 20023471 Dokument- Nr. 1000000019358 v15	Mai 2022	Hinzugefügt: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Informationen zu Illumina Connected Analytics.</li> <li>• Die Vorvakuumkontrolle.</li> <li>• Klarstellung, dass DPX3 mit Reagenzien-Kits der Version 1.0 und 1.5 kompatibel ist.</li> </ul>

<b>Dokument</b>	<b>Datum</b>	<b>Beschreibung der Änderung</b>
Material- Nr. 20023471 Dokument- Nr. 1000000019358 v14	September 2020	Katalognummern der verfügbaren Kits auf die derzeit erhältlichen Reagenzien-Kits der Versionen 1.0 und 1.5 aktualisiert.
Material- Nr. 20023471 Dokument- Nr. 1000000019358 v13	Juli 2020	Informationen zum NovaSeq 6000-Reagenzien-Kit v1.5 und zur Software v1.7 hinzugefügt, die bei bestimmten Datenfeldern mit Laufmetriken eine Aufschlüsselung der Metriken nach Lanes ermöglicht.
Material- Nr. 20023471 Dokument- Nr. 1000000019358 v12	Februar 2020	Denatur und verdünnte Informationen in neue NovaSeq 6000 Denature and Dilute Guide (NovaSeq 6000 Leitfaden zum Denaturieren und Verdünnen) (Dokument-Nr. 1000000106351) verschoben.
Material- Nr. 20023471 Dokument- Nr. 1000000019358 v11	Februar 2019	Tabelle zur Bibliothekspool-Plexität für den Xp-Workflow aktualisiert.
Material- Nr. 20023471 Dokument- Nr. 1000000019358 v10	Januar 2019	Angaben zu SP-Fließzellen hinzugefügt. Tabellen zur empfohlenen Bibliothekspool-Plexität für den Standard- und den Xp-Workflow aktualisiert.
Material- Nr. 20023471 Dokument- Nr. 1000000019358 v09	November 2018	Link zur NovaSeq 6000-Supportseite korrigiert. Fehlenden Warnhinweis ergänzt.

<b>Dokument</b>	<b>Datum</b>	<b>Beschreibung der Änderung</b>
Material- Nr. 20020483 Dokument- Nr. 1000000019358 v08	September 2018	Angaben zum NovaSeq 6000 S4 Kit (200 Zyklen) hinzugefügt. Angaben zum Benutzerkonto hinzugefügt. Ladekonzentrationen für eine Fließzelle hinzugefügt. Anweisungen für den gestaffelten Start von Läufen aktualisiert. BaseSpace-Zeichen in den Anweisungen aktualisiert. Anweisungen zu Selbsttests aktualisiert. Anweisungen zur Erfordernis der Bestätigung des Ausschaltens bzw. Neustartens hinzugefügt. Hinweis bezüglich unvollständiger Nachwaschung hinzugefügt. Angaben zum Wartungswaschlauf präzisiert. Angaben zur Softwareaktualisierung präzisiert.

Dokument	Datum	Beschreibung der Änderung
Material- Nr. 20020483 Dokument- Nr. 1000000019358 v07	April 2018	<p>Angaben zur Verwendung des Bibliotheksröhrchens zum Mischen von Reagenzien beim Boost-Schritt vor der Sequenzierung präzisiert.</p> <p>Tabelle mit Erläuterungen der auf Verbrauchsmaterialien bzw. deren Verpackungen verwendeten Symbole hinzugefügt.</p> <p>Informationen zum Überwachungsdienst Illumina Proactive im Abschnitt „Laufkonfigurationsmodi“ hinzugefügt.</p> <p>Angaben zur NovaSeq LIMS-API hinzugefügt.</p> <p>Software-Beschreibungen wurden auf NovaSeq Control Software v1.4.0 aktualisiert.</p> <p>Typische Anzahl der Reads nach Filterung für S2-Fließzellen aktualisiert.</p> <p>Empfohlene Ladekonzentrationen für den NovaSeq Xp-Workflow aktualisiert.</p> <p>Anweisungen zur Öffnung der Fließzellenverpackung aktualisiert.</p> <p>Beschreibung des Verfahrens zum Laden von Bibliotheken auf die Fließzelle präzisiert.</p> <p>Hinweis zur Möglichkeit des Starts eines Wartungswaschlaufs auf dem Gerät hinzugefügt.</p> <p>Angaben zum Timer für den gestaffelten Start hinzugefügt.</p> <p>Angaben zum Hinzufügen bzw. Entfernen von SRP-Regeln hinzugefügt.</p>

Dokument	Datum	Beschreibung der Änderung
Dokument-Nr. 1000000019358 v06	Februar 2018	<p>Hinweis im Abschnitt „Fließzelle“ zur Erforderlichkeit von Softwareversion 1.3.1 bei Verwendung einer S1-Fließzelle hinzugefügt. Beschreibungen und Standardvolumen in der Tabelle im Abschnitt <i>Verfahren zum Laden von Bibliotheken</i> aktualisiert.</p> <p>Warnhinweis zum Abschnitt <i>Komponenten des Reagenzien-Kits</i> hinzugefügt.</p> <p>0,5- und 1,5-ml-Röhrchen sowie Pipettenspitzen für 20-, 200- und 1000-<math>\mu</math>l-Pipetten zur Tabelle „Verbrauchsmaterialien“ hinzugefügt. Messzylinder zur Tabelle „Ausstattung“ hinzugefügt.</p> <p>Abschnitt <i>Vorbereiten der Fließzelle</i> zu den Kapiteln 4 und 5 hinzugefügt. Schritte aus Kapitel 6 in diese Abschnitte verschoben.</p> <p>Gesamtvolumen für die S1-Fließzelle zu Kapitel 4 hinzugefügt.</p> <p>Tabelle „Empfohlene Bibliothekspool-Plexität“ zum Abschnitt <i>Erstellen eines normalisierten Bibliothekspools</i> in Kapitel 4 hinzugefügt.</p> <p>Schritte unter <i>Auftauen der SBS- und Clusterkartuschen</i> in den Kapiteln 4 und 5 aktualisiert.</p> <p>Anweisungen zum Auftauen unter <i>Vorbereiten der Fließzelle</i> präzisiert.</p> <p>Angaben zum Auftauen unter <i>Empfohlene Ladekonzentrationen für NovaSeq Xp</i> aktualisiert.</p> <p>Tabelle „Empfohlene Bibliothekspool-Plexität“ im Abschnitt <i>Erstellen eines normalisierten Bibliothekspools</i> in Kapitel 5 aktualisiert.</p> <p>Satz zu den Abschnitten <i>Zusammenfassung des NovaSeq Xp-Workflows</i> und <i>Vorbereiten der Fließzelle</i> hinzugefügt, der erläutert, dass die Fließzelle nach der Entnahme aus der Verpackung innerhalb von 12 Stunden verwendet werden muss.</p>

Dokument	Datum	Beschreibung der Änderung
Dokument-Nr. 1000000019358 v05	Dezember 2017	<p>Erläuterung bezüglich des leeren Bibliotheksröhrchens für Xp im Diagramm „Sequenzierungsworkflow“ hinzugefügt.</p> <p>Tris-HCl-Volumen in der Tabelle zu Schritt 5 unter „Denaturieren der Bibliothek und optionale PhiX-Kontrolle“ für den Standard-Workflow hinzugefügt.</p> <p>Hinweis zum Abschnitt „Vorbereiten der ExAmp-Master-Mischung für den NovaSeq Xp-Workflow“ nach Schritt 4 eingefügt, der besagt, dass sich die besten Ergebnisse mit einem Vortexer erzielen lassen.</p> <p>Erinnerung zum Abschnitt „Laden von Bibliotheken auf die Fließzelle“ für den NovaSeq Xp-Workflow nach Schritt 3 hinzugefügt, der besagt, dass Proben langsam geladen werden müssen.</p>
Material-Nr. 20023471 Dokument-Nr. 1000000019358 v04	Oktober 2017	<p>Beladen einzelner Lanes zur Liste der Gerätemerkmale hinzugefügt.</p> <p>Verbrauchsmaterialien: NovaSeq Xp 2-Lane-Kit und NovaSeq Xp 4-Lane-Kit hinzugefügt. NovaSeq Xp 2-Lane Manifold Pack und NovaSeq 4-Lane Manifold Pack hinzugefügt.</p> <p>Ausstattung: NovaSeq Xp-Fließzellenstation und P200-Pipette für den NovaSeq Xp-Workflow hinzugefügt.</p> <p>Kapitel „Vorbereiten von Verbrauchsmaterialien“ für den NovaSeq Xp-Workflow hinzugefügt.</p> <p>Abschnitt „Leeren der Flaschen für benutzte Reagenzien“ aus dem Kapitel „Sequenzieren“ an den Anfang der Kapitel „NovaSeq Standard-Workflow“ und „NovaSeq Xp-Workflow“ verschoben.</p> <p>Tabelle „Konzentration der gepoolten Bibliothek“ und Tabelle „Empfohlene Ladekonzentration“ für den Standard-Workflow aktualisiert.</p>

Dokument	Datum	Beschreibung der Änderung
Material- Nr. 20020483 Dokument- Nr. 1000000019358 v03	September 2017	<p>Softwarebeschreibungen auf NovaSeq Control Software v1.2 einschließlich Unterstützung für die Fließzellen S1 und S4 aktualisiert.</p> <p>Speicherplatzanforderungen für einen Lauf mit zwei Fließzellen für die Fließzellen S1 und S4 hinzugefügt.</p> <p>Benennungsanforderungen für bestimmte JSON-Dateien hinzugefügt.</p> <p>Kit-Übersicht in Kapitel <i>Kits und Zubehör</i> neu angeordnet. Dieses Kapitel deckt die Konfigurationen, Komponenten und Kennzeichnungen der Kompatibilität für die Kits zum Laden der Reagenzien und der Bibliothek ab. NovaSeq 6000-Reagenzien-Kit zu den vom Benutzer bereitzustellenden Verbrauchsmaterialien hinzugefügt.</p> <p>Anweisungen zum Poolen und Denaturieren von Bibliotheken mit Angaben zu den Fließzellen S1 und S4 aktualisiert.</p> <p>Anweisungen zum Auftauen der Reagenzienkartuschen aktualisiert. Für S1 und S2 ist ein zweistündiges Wasserbad und für S4 ein vierstündiges Wasserbad erforderlich.</p> <p>Beschreibungen des Bibliotheksröhrchens, der Reagenzienkartuschen und der Fließzellen mit Angaben zu S4-Komponenten aktualisiert.</p> <p>Abschnitt zu automatischen Software-Updates zum Kapitel „Wartung“ hinzugefügt.</p> <p>Der Verweis auf <i>Reducing Whole-Genome Data Storage Footprint (Pub.-Nr. 970-2012-013)</i> wurde durch <i>NovaSeq Series and HiSeq X Ten Data Quality Comparison (Pub.-Nr. 770-2017-010)</i> ersetzt.</p> <p>Hinweis zu Schritt 3 in <i>Eingeben der Laufparameter</i> in Kapitel 6 hinzugefügt.</p> <p>Abschnitt <i>Fließzellenplatten</i> mit Angaben zu S1- und S4-Platten aktualisiert.</p>

Dokument	Datum	Beschreibung der Änderung
Material- Nr. 20018871 Dokument- Nr. 1000000019358 v02	April 2017	<p>Folgende Informationen wurden hinzugefügt:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Von Illumina bereitgestellte Verbrauchsmaterialien, die für einen Lauf erforderlich sind.</li> <li>• Lagerungsbedingungen für Reagenzien-Kit-Komponenten.</li> <li>• Empfehlungen zur Bibliotheksladekonzentration.</li> <li>• NaOH-Verdünnung für zwei Fließzellen.</li> <li>• Schritt, bei dem die Fließzelle vor dem Laden auf Raumtemperatur gebracht wird.</li> <li>• Schritt, bei dem nach dem Leeren der Flaschen für benutzte Reagenzien die Handschuhe gewechselt werden.</li> <li>• Konfiguration der LIMS-Ausgabe für LIMS-Systeme von Drittanbietern.</li> <li>• Namenskonvention für Probenblätter.</li> <li>• Symbole und Fehlerbehebung für Prozessmanagement.</li> <li>• Anhang mit Windows-Sicherheitsfunktionen und Konfigurationsanweisungen.</li> <li>• Kontaktinformationen für technische Unterstützung.</li> </ul> <p>Auftauzeit für Reagenzienkartuschen auf vier Stunden erhöht.</p> <p>Anweisungen zum PhiX-Spike-in aktualisiert: Änderung des 1%-PhiX-Spike-in-Volumens auf 0,9 µl und Verwendung von 10 mM Tris-HCL, pH 8,5 zum Verdünnen von 10 nM PhiX.</p> <p>Anweisungen zum Reinigen der Fließzelle und des Fließzellentisches ausschließlich bei sichtbaren Partikeln aktualisiert.</p> <p>Häufigkeit der Wartungswaschläufe auf alle 14 Tage aktualisiert.</p> <p>Anweisungen zur Vorbereitung der Verbrauchsmaterialien zum Verbessern der Kontinuität anders organisiert und zusammengeführt.</p> <p>Glastüren in Flüssigkeitskammertüren umbenannt.</p>

<b>Dokument</b>	<b>Datum</b>	<b>Beschreibung der Änderung</b>
Material- Nr. 20018406 Dokument- Nr. 1000000019358 v01	März 2017	Namen einer Spalte auf dem Bildschirm „Process Management“ (Prozessmanagement) in „Sequencing“ (Sequenzierung) geändert.
Material- Nr. 20015871 Dokument- Nr. 1000000019358 v00	Februar 2017	Erste Version.



Illumina, Inc.  
5200 Illumina Way  
92122 San Diego, Kalifornien, USA  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (außerhalb von Nordamerika)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com

**Nur für Forschungszwecke. Nicht zur Verwendung in Diagnoseverfahren.**

© 2.025 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

**illumina®**