

illumina®

NovaSeq 6000

Guía del sistema de secuenciación

PROPIEDAD EXCLUSIVA DE ILLUMINA
N.º de documento 1000000019358 v18
Abril de 2025

Para uso exclusivo en investigación. Prohibido su uso en procedimientos de diagnóstico.

Este documento y su contenido son propiedad exclusiva de Illumina, Inc. y sus empresas vinculadas ("Illumina"), y están previstos solamente para el uso contractual de sus clientes en relación con el uso de los productos descritos en él y no para ningún otro fin. Este documento y su contenido no se utilizarán ni distribuirán con ningún otro fin ni tampoco se comunicarán, divulgarán ni reproducirán de ninguna otra forma sin el consentimiento previo por escrito de Illumina. Illumina no transfiere mediante este documento ninguna licencia bajo sus derechos de patente, marca comercial, autor ni consuetudinarios o derechos similares de terceros.

Para garantizar el uso correcto y seguro de los productos descritos en este documento, el personal cualificado y adecuadamente capacitado debe seguir las instrucciones incluidas en él de manera rigurosa y expresa. Se debe leer y entender por completo todo el contenido de este documento antes de usar estos productos.

SI NO SE LEE COMPLETAMENTE EL DOCUMENTO Y NO SE SIGUEN EXPRESAMENTE TODAS LAS INSTRUCCIONES DESCRITAS EN ESTE, PODRÍAN PRODUCIRSE DAÑOS EN EL PRODUCTO, LESIONES PERSONALES (TANTO EN LOS USUARIOS COMO EN OTRAS PERSONAS) Y DAÑOS EN OTROS BIENES, Y QUEDARÁ ANULADA TODA GARANTÍA APLICABLE AL PRODUCTO.

ILLUMINA NO ASUME RESPONSABILIDAD ALGUNA DERIVADA DEL USO INCORRECTO DE LOS PRODUCTOS AQUÍ DESCRITOS (LO QUE INCLUYE LAS PIEZAS O EL SOFTWARE).

© 2025 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea obtener información concreta sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.

Índice

Descripción general	1
Introducción	1
Descripción general de la secuenciación	3
Flujo de trabajo de secuenciación	4
Componentes del instrumento	7
Kits y accesorios	13
Descripción general de los kits	13
Componentes del kit de reactivos	15
Componentes del kit de NovaSeq Xp	19
Plataforma de la celda de flujo de NovaSeq Xp	20
Consumibles y equipos proporcionados por el usuario	21
Descripción de símbolos	25
Configuración del sistema	27
Puesta en servicio del instrumento	27
Configuración de ajustes	29
Flujo de trabajo estándar: Preparación de consumibles	37
Prácticas recomendadas	37
Descongelación de cartuchos de SBS y de grupos	37
Vaciado de botellas de reactivos usados	39
Preparación de la celda de flujo	40
Agrupación y desnaturalización de bibliotecas para la secuenciación	40
Flujo de trabajo de NovaSeq Xp: Preparación de consumibles	42
Resumen de flujo de trabajo de NovaSeq Xp	42
Métodos	43
Descongelación de cartuchos de SBS y de grupos	44
Vaciado de botellas de reactivos usados	45
Preparación de la celda de flujo y la plataforma	46
Descongelación de los reactivos ExAmp	46
Compruebe la presión de vacío de la celda de flujo	47
Agrupación, desnaturalización y carga de bibliotecas para la secuenciación	48
Secuenciación	54
Configuración de un experimento de secuenciación	54
Supervisión del progreso del experimento	63

Inicio escalonado de experimentos	64
Eliminación del experimento	65
Desacople de la posición n.º 30	65
Lavado automático posterior al experimento	66
Mantenimiento	68
Mantenimiento preventivo	68
Realización de un lavado de mantenimiento	68
Actualizaciones de software	73
Solución de problemas	75
Recursos de solución de problemas	75
Archivos de solución de problemas	75
Errores de la comprobación previa al experimento	76
Solución de problemas de gestión de procesos	77
Error en experimento antes de la generación de grupos	77
Finalización de un experimento	79
Apagado del instrumento	79
Real-Time Analysis	81
Descripción general de Real-Time Analysis	81
Flujo de trabajo de Real-Time Analysis	84
Archivos y carpetas de resultados	88
Estructura de carpetas de resultados de secuenciación	88
Archivos de resultados de secuenciación	89
Seguridad de Windows	90
Requisitos de las contraseñas	90
Cortafuegos de Windows	90
Kit de herramientas de experiencia mejorada de migración	90
Software Restriction Policies	90
Consideraciones sobre el modo de investigación de NovaSeq 6000Dx	93
Introducción	93
Opciones de planificación de experimentos de NovaSeq 6000Dx	93
Compatibilidad de los consumibles de NovaSeq 6000Dx	94
Indicadores de modo de NovaSeq 6000Dx Instrument	94
Recursos y referencias	95

Historial de revisiones 95

Descripción general

Introducción

El sistema 6000 Illumina® NovaSeq™ incluye una productividad escalable y tecnología de secuenciación flexible en una plataforma a escala de producción, con la eficacia y la rentabilidad de un sistema de sobremesa.

Prestaciones

- **Secuenciación flexible:** el NovaSeq 6000 se amplía a la secuenciación a niveles de producción con datos de alta calidad para una amplia variedad de aplicaciones.
- **Resultado ajustable:** el NovaSeq 6000 es un sistema de doble celda de flujo con una amplia variedad de resultados. Secuencie una celda de flujo o dos celdas de flujo con longitudes de lectura diferentes al mismo tiempo. Mezcle y empareje cuatro tipos de celdas de flujo y diferentes longitudes de lectura.
- **Celda de flujo de tramas:** una celda de flujo de tramas genera grupos con espacios muy limitados. El reducido espacio entre los nanopocillos aumenta la densidad de grupos y la obtención de datos.
- **Mezcla de ExAmp en el instrumento:** el NovaSeq 6000 mezcla los reactivos ExAmp con la biblioteca, amplifica la biblioteca y realiza la generación de grupos para optimizar el flujo de trabajo de la secuenciación.
- **Carga de carril individual:** la plataforma de la celda de flujo de NovaSeq Xp permite cargar previamente las bibliotecas en carriles individuales de la celda de flujo y reduce el volumen de carga de bibliotecas.
- **Lectura de líneas de alta productividad:** el NovaSeq 6000 utiliza una cámara con tecnología de adquisición de imágenes bidireccional para adquirir rápidamente imágenes de la celda de flujo en dos canales de color al mismo tiempo.
- **Real-Time Analysis (RTA):** NovaSeq 6000 utiliza una implementación de RTA llamada RTA3. Este software integrado analiza las imágenes y las bases de llamadas.
- **Integración de BaseSpace Sequence Hub:** el flujo de trabajo de secuenciación está integrado en BaseSpace Sequence Hub, el entorno informático de genómica de Illumina para la colaboración y el almacenamiento y análisis de datos. Conforme avanza el experimento, los archivos de resultados se envían al entorno en tiempo real.
- **Listo para utilizarse con BaseSpace Clarity LIMS:** mejore la eficiencia operativa con un seguimiento integral de muestras y reactivos, unos flujos de trabajo automatizados y un funcionamiento del instrumento integrado.

- **Illumina Connected Analytics:** la versión 1.8 y posteriores de Software de control NovaSeq se integra con Illumina Connected Analytics, el entorno de la nube de genómica de Illumina para la colaboración, el almacenamiento y el análisis de datos. Si ICA está habilitado en su región, puede seleccionar su dominio ICA durante la configuración de la ejecución. Conforme avanza el experimento, los archivos de resultados se envían al entorno en tiempo real.

Otros recursos

Las [páginas de asistencia del NovaSeq 6000 Sequencing System](#) del sitio web de Illumina proporcionan recursos adicionales. Estos recursos incluyen el software, la formación, los productos compatibles y la siguiente documentación. Revise siempre las páginas de asistencia para obtener las versiones más recientes.

Recurso	Descripción
<i>Guía de cumplimiento y seguridad de la serie NovaSeq (n.º de documento 1000000019357)</i>	Proporciona información sobre los aspectos de seguridad operativa a tener en cuenta, las declaraciones de cumplimiento normativo y el etiquetado del instrumento.
<i>Guía de cumplimiento del lector de RFID (n.º de documento 1000000002699)</i>	Proporciona información sobre el lector de RFID del instrumento, incluidas las certificaciones de cumplimiento normativo y las consideraciones de seguridad.
<i>Guía de cebadores personalizados NovaSeq Series (n.º de documento 1000000022266)</i>	Proporciona información sobre la sustitución de los cebadores de secuenciación de Illumina por cebadores de secuenciación personalizados.
<i>Guía del sistema NovaSeq 6000 (n.º de documento 1000000019358)</i>	Proporciona una descripción general de los componentes del instrumento, instrucciones de preparación de los consumibles de secuenciación, instrucciones de manejo del instrumento, y procedimientos de mantenimiento y solución de problemas.

Descripción general de la secuenciación

Generación de grupos

Durante la generación de grupos, las moléculas individuales de ADN se unen a la superficie de la celda de flujo y se amplifican simultáneamente para formar grupos. Para el flujo de trabajo de NovaSeq Standard, la mezcla maestra de ExAmp se mezcla con las bibliotecas integradas en el instrumento antes de la generación de grupos. En el flujo de trabajo de NovaSeq Xp, los reactivos ExAmp y las bibliotecas se mezclan y suministran a la celda de flujo fuera del instrumento. Los volúmenes varían por tipo de celda de flujo y por flujo de trabajo.

Secuenciación

Se adquieren imágenes de los grupos mediante una lectura bidireccional y un proceso químico de secuenciación de dos canales. La cámara utiliza sensores que detectan la luz roja y verde para obtener imágenes de cada sector y a la vez generar imágenes rojas y verdes de todo el sector. Tras la adquisición de imágenes, se realiza la llamada de bases de los grupos de cada placa en función de la proporción de la señal verde a roja de cada grupo, que se basa en la ubicación determinada por la celda de flujo de tramas. Este proceso se repite para cada ciclo de secuenciación.

Análisis

A medida que el experimento avanza, el Software de control NovaSeq (NVCS) transfiere de forma automática archivos de llamadas de bases (*.cbcl) a la ubicación de la carpeta de resultado especificada para el análisis de los datos.

En función de la aplicación, hay varios métodos de análisis disponibles. Para obtener más información, visite la [página de asistencia BaseSpace Sequence Hub en el sitio web de Illumina](#).

Flujo de trabajo de secuenciación



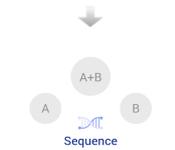
Descongele los cartuchos de SBS y de reactivos de grupos.



Agrupe y desnaturalice las bibliotecas. Para el flujo de trabajo de NovaSeq Standard, añada bibliotecas al tubo de bibliotecas. Para el flujo de trabajo de NovaSeq Xp, cargue la mezcla de ExAmp/biblioteca en la celda de flujo.

Para ambos flujos de trabajo, cargue el tubo de bibliotecas en el cartucho de grupos descongelado.

Para obtener más información, consulte [Generador de protocolos de desnaturalización y dilución](#).



En la interfaz de software, seleccione **Sequence** (Secuenciar) y especifique un experimento de celda de flujo individual o de celda de flujo doble.

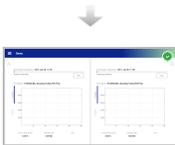


Descargue los consumibles del anterior experimento y cargue los nuevos del experimento actual.



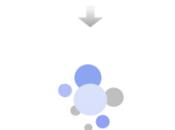
Especifique los parámetros del experimento en la pantalla Run Setup (Configuración del experimento). Si se ha configurado BaseSpace Sequence Hub, inicie sesión en la pantalla de inicio de sesión.

Una vez finalizadas las comprobaciones previas al experimento, este se inicia automáticamente.



Supervise el experimento en la pantalla Sequence (Secuenciar), desde BaseSpace Sequence Hub si la supervisión del experimento está activada, o desde un ordenador conectado a la red con Sequencing Analysis Viewer.

Los datos se transfieren a la carpeta de resultados especificada.



El lavado del instrumento se inicia de forma automática tras finalizar la secuenciación.

Métodos de carga de bibliotecas

NovaSeq 6000 Las bibliotecas se cargan en una celda de flujo de utilizando uno de los siguientes dos métodos, en función del flujo de trabajo seleccionado. La configuración de un experimento de secuenciación difiere según el flujo de trabajo. Asegúrese de que siempre sigue las instrucciones del método que ha elegido. Consulte [Flujo de trabajo estándar: Preparación de consumibles](#), en la página 37 y [Flujo de trabajo de NovaSeq Xp: Preparación de consumibles](#), en la página 42.

Tabla 1 Métodos de carga de bibliotecas

Flujo de trabajo	Método de carga de grupo de bibliotecas y de mezcla de ExAmp	Direccionabilidad de carril individual y análisis de datos	Volumen de carga* de los modos SP, S1, S2 o S4 (µl)
Norma	Se carga un grupo de bibliotecas individual en el tubo de bibliotecas, se mezcla de manera integrada en el tubo de bibliotecas con los reactivos ExAmp, y se suministra automáticamente a la celda de flujo para la generación de grupos y la secuenciación. Un paso de impulso antes de que la secuenciación utilice los reactivos en el cartucho de grupos y el tubo de bibliotecas para crear una mezcla acondicionadora que ayude a mejorar la eficacia de la generación de grupos.	Un grupo de bibliotecas individual se distribuye, y se secuencia, en todos los carriles de la celda de flujo. Las lecturas de todos los carriles se analizan en conjunto.	150, 225 y 465 µl (toda la celda de flujo)

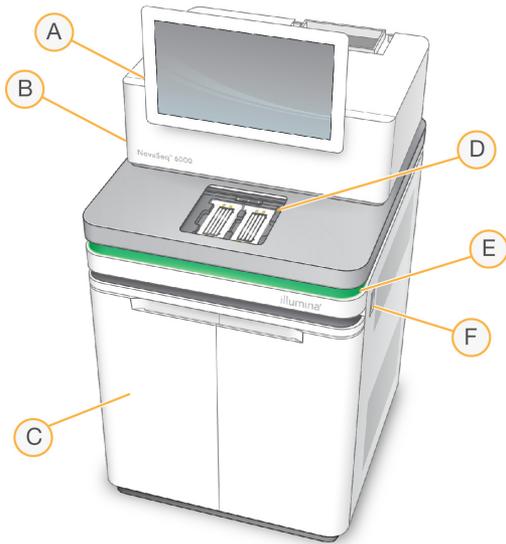
Flujo de trabajo	Método de carga de grupo de bibliotecas y de mezcla de ExAmp	Direccionabilidad de carril individual y análisis de datos	Volumen de carga* de los modos SP, S1, S2 o S4 (µl)
NovaSeq Xp	Una o más bibliotecas (el número se corresponde con el número de carriles de la celda de flujo) se mezclan manualmente con reactivos ExAmp fuera del instrumento y se cargan directamente en carriles individuales de la celda de flujo utilizando la base de celda de flujo de NovaSeq Xp. A continuación, se carga la celda de flujo llena en el instrumento para la generación de grupos y la secuenciación. Un paso de impulso antes de que la secuenciación utilice el tubo de bibliotecas vacío para mezclar los reactivos del cartucho de grupos para crear una mezcla acondicionadora que ayude a mejorar la eficacia de la generación de grupos.	Cada biblioteca se carga en un carril independiente de la celda de flujo, que, posteriormente, se secuencian. Pueden utilizarse diferentes grupos, alícuotas del mismo grupo, o combinaciones aleatorias. Las lecturas de los diferentes carriles se analizan individualmente o en conjunto, según corresponda.	27, 33 y 45 µl (carril individual)

* El flujo de trabajo de NovaSeq Xp requiere una concentración entre un 25 y un 50 % menor de bibliotecas desnaturalizadas en comparación con el flujo de trabajo de NovaSeq Standard.

Componentes del instrumento

El NovaSeq 6000 Sequencing System consta de un monitor de pantalla táctil, una barra de estado, un botón de encendido con puertos USB adyacentes y tres compartimentos.

Figura 1 Componentes externos



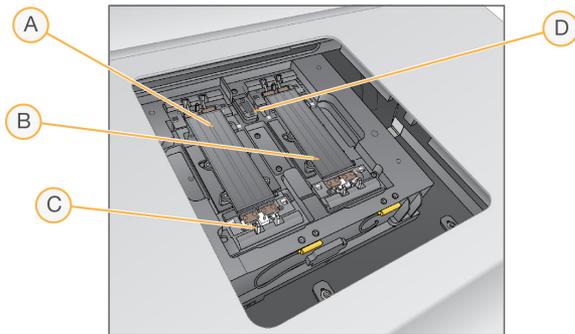
- A. **Monitor de pantalla táctil:** muestra la interfaz del NVCS para la configuración del sistema y la configuración y monitorización de experimentos.
- B. **Compartimento de óptica:** contiene los componentes ópticos que permiten la adquisición de imágenes de las dos superficies de las celdas de flujo.
- C. **Compartimento de líquidos:** contiene cartuchos de reactivos y de tampón, y botellas para los reactivos usados.
- D. **Compartimento de la celda de flujo:** alberga la celda de flujo.
- E. **Barra de estado:** indica el estado de la celda de flujo como listo para la secuenciación (verde), en procesamiento (azul) o requiere asistencia (naranja).
- F. **Botón de encendido y puertos USB:** proporciona acceso al botón de encendido y a las conexiones USB para los componentes periféricos.

Compartimento de la celda de flujo

El compartimento de la celda de flujo contiene la platina de la celda de flujo, que incluye la celda de flujo A en el lado izquierdo y la celda de flujo B en el derecho. Cada lado dispone de cuatro abrazaderas que sitúan y fijan automáticamente la celda de flujo.

Un objetivo de alineación óptica montado sobre la platina de la celda de flujo diagnostica y corrige los problemas ópticos. Cuando el NVCS así lo indica, el objetivo de alineación óptica alinea de nuevo el sistema y ajusta el enfoque de la cámara con el fin de mejorar los resultados de secuenciación.

Figura 2 Platina de la celda de flujo



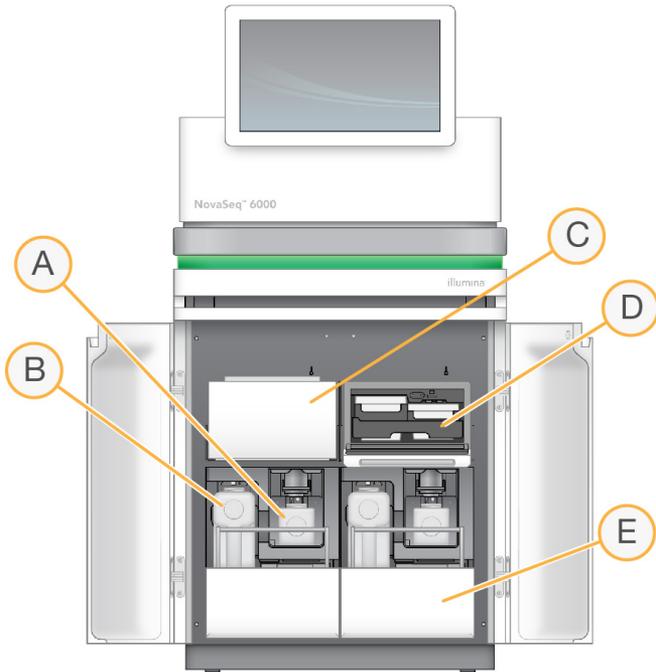
- A. Lado del soporte de la celda de flujo A
- B. Lado del soporte de la celda de flujo B
- C. Abrazadera de la celda de flujo (una de cuatro por cada lado)
- D. Objetivo de alineación óptica

El software controla la apertura y el cierre de la puerta del compartimento de la celda de flujo. La puerta se abre automáticamente para cargar una celda de flujo para un experimento o un lavado de mantenimiento. Después de la carga, el software cierra la puerta del compartimento, mueve la celda de flujo a su sitio y acopla las abrazaderas y la junta de vacío. Los sensores verifican la presencia y la compatibilidad de la celda de flujo.

Compartimento de líquidos

Para configurar un experimento, hay que acceder al compartimento de líquidos para cargar reactivos y tampones y vaciar las botellas de reactivos utilizados. El compartimento de líquidos, que se divide en dos lados iguales para la celda de flujo A y la celda de flujo B, se cierra con dos puertas.

Figura 3 Componentes del compartimento de líquidos



- A. **Botella pequeña de reactivos utilizados:** contiene reactivos usados del cartucho de grupos, con un soporte para la tapa que permite guardarla cómodamente.
- B. **Botella pequeña de reactivos utilizados:** contiene reactivos usados del cartucho de SBS y de tampón, con un soporte para la tapa que permite guardarla cómodamente.
- C. **Refrigerador de reactivos:** refrigera los cartuchos de SBS y de grupos.
- D. **Cajón de refrigerador de reactivos:** las posiciones identificadas con colores alojan el cartucho de SBS a la izquierda (etiqueta gris) y el cartucho de grupos a la derecha (etiqueta naranja).
- E. **Cajón de tampones:** incluye la botella grande de reactivos utilizados a la izquierda y el cartucho de tampón a la derecha.

Reactivos usados

El sistema de fluidica está diseñado para enviar los reactivos de los cartuchos de grupos, que pueden ser peligrosos, a la botella pequeña de reactivos utilizados. Los reactivos de los cartuchos de SBS y de tampones pasan a la botella grande de reactivos utilizados. Sin embargo, puede producirse contaminación cruzada entre los flujos de reactivos usados. Se presupone que ambas botellas de reactivos utilizados contienen sustancias químicas que pueden ser peligrosas. La hoja de datos de seguridad (SDS) proporciona información detallada de la composición química.

i | Si el sistema está configurado para recoger los reactivos utilizados externamente, el flujo hacia la botella grande de reactivos utilizados se dirige de manera externa. Los reactivos de los cartuchos de grupos siempre se dirigen a la botella pequeña de reactivos utilizados.

Software del sistema

El paquete de software del instrumento incluye aplicaciones integradas que realizan experimentos de secuenciación, análisis integrados en el instrumento y funciones relacionadas.

- **Software de control NovaSeq (NVCS):** este software le guía a través de los pasos para configurar un experimento de secuenciación, controla las operaciones del instrumento y muestra estadísticas a medida que el experimento avanza. Para mostrar cómo se realiza una descarga y una carga de consumibles adecuadas, NVCS reproduce vídeos instructivos durante la configuración del experimento.
- **Real-Time Analysis (RTA):** realiza el análisis de imágenes y la llamada de bases durante un experimento. NovaSeq 6000 utiliza RTA3, que incorpora mejoras de arquitectura, de seguridad y de otras características para optimizar el rendimiento. Para obtener más información, consulte [Real-Time Analysis, en la página 81](#).
- **Universal Copy Service (UCS):** copia archivos de resultados de RTA3 y NVCS a la carpeta de resultados durante un experimento. Si es aplicable, el servicio también transfiere datos a BaseSpace Sequence Hub. Si se detiene el Universal Copy Service durante un experimento, el servicio realiza automáticamente varios intentos de reconexión y reanudación de la transferencia de datos.

Iconos de estado

Un icono de estado en la interfaz de NVCS indica el estado del experimento. Un número en el icono indica el número de condiciones para un estado.

Cuando cambia el estado de un experimento, el icono parpadea para alertarle. Seleccione el icono para visualizar una descripción del estado. Seleccione **Acknowledge** (Aceptar) para que desaparezca el mensaje y **Close** (Cerrar) para salir del cuadro de diálogo.

Tabla 2 NVCS Iconos de estado

Icono de estado	Nombre de estado	Descripción
	Estado correcto	El sistema está normal.
	Procesando	El sistema está procesando.

Icono de estado	Nombre de estado	Descripción
	Advertencia	Se ha producido una advertencia y es necesaria su atención. Las advertencias no detienen un experimento ni requieren una acción antes de continuar.
	Error	Se ha producido un error. Los errores precisan una acción antes de continuar con el experimento.

Gestión del proceso

La pantalla Process Management (Administración de procesos) proporciona acceso al motor informático (CE) y a la unidad C. Utilice la pantalla para supervisar el progreso de los experimentos, eliminar experimentos y realizar otras tareas de administración de espacio en disco. No elimine nunca archivos y carpetas directamente de la unidad C.

La pantalla Process Management (Administración de procesos) muestra el espacio disponible en disco, el espacio utilizado en el CE y la unidad C, así como el estado de los experimentos que utilizan espacio en disco. Las columnas Run Date (Fecha de experimento) y Run Name (Nombre de experimento) identifican cada experimento. Las columnas Run Status (Estado de experimento), BaseSpace y Network (Red) muestran el estado de cada proceso para un experimento.

Tabla 3 Iconos de estado de la administración de procesos

Proceso	Icono	Descripción
Estado del experimento	 En curso	El experimento está en curso.
	 Realizado	El experimento ha finalizado la secuenciación.
Red	 Copiando	Se están copiando los archivos a la carpeta de resultados de la red.
	 Realizado	Se han copiado correctamente todos los archivos a la carpeta de resultados de la red.
	N/A	No es aplicable porque el experimento no está configurado para cargarse en una carpeta de resultados de red o se desconoce el estado de carga. Para solucionar problemas, consulte Solución de problemas de gestión de procesos, en la página 77 .

Proceso	Icono	Descripción
Cloud (Nube)	 Cargando	Los archivos se están cargando en la opción de alojamiento en la nube seleccionada.
	 Realizado	Todos los archivos se cargan en la opción de alojamiento en la nube seleccionada.
	N/A	No es aplicable porque el experimento no está configurado para cargarse en la nube, o se desconoce el estado de carga. Para solucionar problemas, consulte Solución de problemas de gestión de procesos, en la página 77 .

Requisitos mínimos de espacio

Para poder iniciar un experimento de celda de flujo, deben cumplirse los requisitos de espacio mínimo en CE y la unidad C.

i | En los experimentos con una sola celda de flujo, los requisitos de espacio mínimo corresponden a la mitad de los que se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 4 Requisitos de espacio mínimo en CE y C:\ para experimentos de celda de flujo doble

Celda de flujo	Espacio en CE por ciclo (Gb)	Espacio en C:\ por par de celdas de flujo (Gb)
SP	0,5	5
S1	1,35	20
S2	2,7	20
S4	4,3	40

Para calcular el espacio total requerido en CE para el experimento, multiplique el valor del espacio mínimo en CE por ciclo por la suma de los valores de longitud de los campos de Read 1 (Lectura 1), Read 2 (Lectura 2), Index 1 (Índice 1) e Index 2 (Índice 2) (consulte [Introducción de los parámetros del experimento, en la página 59](#)). Por ejemplo, para un experimento "paired-end" S4 de celda de flujo doble y 150 ciclos con ambos índices de 8 bases de largo, el espacio requerido en CE es de 1,37 Tb.

Para obtener información acerca de cómo borrar espacio en el disco, consulte [Eliminación del experimento, en la página 65](#).

Kits y accesorios

Descripción general de los kits

Para realizar un experimento en el NovaSeq 6000 se requiere un Kit de reactivos NovaSeq 6000. El flujo de trabajo de NovaSeq Xp también requiere un kit de NovaSeq Xp. Los kits están disponibles en las siguientes configuraciones.

Para ver la lista completa de elementos necesarios para un experimento, consulte [Consumibles y equipos proporcionados por el usuario, en la página 21](#).

Tabla 5 Configuraciones del kit

Nombre del kit	Reactivos v1.0 Illumina N.º de catálogo	Reactivos v1.5 Illumina N.º de catálogo
Kit de reactivos S4 NovaSeq 6000 (300 ciclos) - paquete de 40	20039236	N/A
Kit de reactivos S4 NovaSeq 6000 (300 ciclos) - paquete de 20	20039234	N/A
Kit de reactivos S4 NovaSeq 6000 (300 ciclos) - paquete de 10	20039233	N/A
Kit de reactivos S4 NovaSeq 6000 (300 ciclos)	20012866	20028312
Kit de reactivos S4 NovaSeq 6000 (200 ciclos)	20027466	20028313
Kit de reactivos S4 NovaSeq 6000 (35 ciclos)	N/A	20044417
Kit de reactivos S2 NovaSeq 6000 (300 ciclos)	20012860	20028314
Kit de reactivos S2 NovaSeq 6000 (200 ciclos)	20012861	20028315
Kit de reactivos S2 NovaSeq 6000 (100 ciclos)	20012862	20028316
Kit de reactivos S1 NovaSeq 6000 (300 ciclos)	20012863	20028317
Kit de reactivos S1 NovaSeq 6000 (200 ciclos)	20012864	20028318
Kit de reactivos S1 NovaSeq 6000 (100 ciclos)	20012865	20028319
Kit de reactivos SP NovaSeq 6000 (500 ciclos)	20029137	20028402
Kit de reactivos SP NovaSeq 6000 (300 ciclos)	20027465	20028400
Kit de reactivos SP NovaSeq 6000 (200 ciclos)	20040326	20040719
Kit de reactivos SP NovaSeq 6000 (100 ciclos)	20027464	20028401

Etiquetado de compatibilidad

Para identificar componentes del kit compatibles, las celdas de flujo y los cartuchos están etiquetados con símbolos que muestran el modo del kit: **SP**, **S1**, **S2** o **S4**. Los distribuidores de NovaSeq Xp admiten varios modos y están etiquetados para 2 carriles (en el caso de las celdas de flujo SP, S1 y S2) o para 4 carriles (en el de las celdas de flujo S4).

Los componentes con modos diferentes no pueden usarse en el mismo experimento. Por ejemplo, no se pueden emparejar cartuchos S1 con una celda de flujo S2.

Está prohibido mezclar cartuchos de SBS/CPE de la v1.0 con cartuchos de la v1.5. Si lo hace, aparecerá un mensaje de error.

Modo del kit	Marcado de la etiqueta	Descripción
Componentes del kit de SP		La celda de flujo SP genera entre 650 y 800 millones de lecturas individuales que superan el filtro, con resultados de hasta 250 Gb a 2 × 150 pb y de hasta 400 Gb a 2 × 250 pb.
Componentes del kit S1		La celda de flujo S1 genera hasta 16 000 millones de lecturas individuales que superan el filtro, con resultados de hasta 500 Gb a 2 × 150 pb. El kit S1 proporciona secuenciación rápida de un número menor de muestras para la mayoría de las aplicaciones de alta productividad.
Componentes del kit S2		La celda de flujo S2 genera hasta 4100 millones de lecturas individuales que superan el filtro, con resultados de hasta 1250 Gb a 2 × 150 pb. Se trata de una versión de dos carriles de la celda de flujo. La celda de flujo S2 ofrece secuenciación rápida para la mayoría de las aplicaciones de alta productividad, con una cantidad mayor de lecturas que una celda de flujo S1 y más resultados de secuenciación.
Componentes del kit S4		La celda de flujo S4 genera hasta 10 000 millones de lecturas individuales que superan el filtro, con resultados de hasta 3000 Gb a 2 × 150 pb. Se trata de una versión de cuatro carriles de la celda de flujo diseñada para lograr el mayor número de resultados. Hace posible obtener de forma rentable una secuenciación del genoma completo para una gran cantidad de especies y profundidades de cobertura diferentes.

En la [página de productos del NovaSeq 6000 Sequencing System](#) en el sitio web de Illumina se detallan las especificaciones de cada modo.

Componentes del kit de reactivos

Cada kits de reactivos de NovaSeq 6000 contiene los siguientes componentes. Cada componente utiliza identificación de radiofrecuencia (RFID) para un seguimiento y una compatibilidad precisos de los consumibles.

Para garantizar un rendimiento adecuado, cuando reciba el kit, almacene sus componentes a la temperatura indicada lo antes posible.

Tabla 6 Componentes del kit

Cantidad	Componente del kit	Temperatura de almacenamiento
1	Tubo de bibliotecas	Entre 15 °C y 30 °C
1	Celda de flujo	Entre 2 °C y 8 °C
1	Cartucho de tampón	Entre 15 °C y 30 °C
1	Cartucho de grupos	Entre -25 °C y -15 °C
1	Cartucho de SBS	Entre -25 °C y -15 °C

⚠ Evite que los cartuchos se caigan. Si se caen, podría lesionarse. Si los reactivos se salen de los cartuchos, podría producirse irritación en la piel. Antes de utilizarlos, inspeccione los cartuchos en busca de fisuras.

Tubo de bibliotecas

El tubo de bibliotecas de NovaSeq 6000 es un tubo de 16 mm que se sitúa en la posición n.º 8 del cartucho de grupos. La posición n.º 8 contiene la etiqueta **Library Tube** (Tubo de bibliotecas) y tiene un círculo naranja para identificarla fácilmente. El tubo cuenta con un tapón de rosca que permite guardar bibliotecas cuando sea necesario. Asegúrese de que se le haya quitado la tapa antes de cargarlo en el cartucho de grupos.

Figura 4 Tubo de bibliotecas



El tubo de bibliotecas se utiliza de una de estas dos formas, en función del flujo de trabajo:

- **NovaSeq Standard:** las bibliotecas agrupadas y desnaturalizadas se añaden al tubo de bibliotecas que, posteriormente, se carga destapado en el cartucho de grupos. Una vez iniciado el experimento, el instrumento mezcla las bibliotecas con los reactivos ExAmp en el tubo de bibliotecas que, posteriormente, se transfiere de manera automática a la celda de flujo.

- **NovaSeq Xp:** el tubo de bibliotecas vacío y destapado se carga en el cartucho de grupos. Durante el experimento, los reactivos se mezclan en el tubo de bibliotecas antes de su distribución en la celda de flujo.

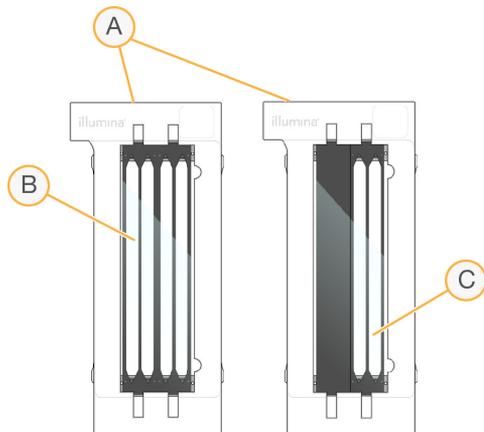
Celda de flujo

La celda de flujo de NovaSeq 6000 es una celda de flujo de tramas integrada en un cartucho. La celda de flujo es un sustrato basado en vidrio que contiene miles de millones de nanopocillos en una disposición ordenada, que aumenta el número de lecturas de salida y los datos de secuenciación. Los grupos se generan en los nanopocillos, desde los cuales se lleva a cabo posteriormente la secuenciación.

Cada celda de flujo cuenta con varios carriles para secuenciar bibliotecas agrupadas. Las celdas de flujo SP, S1 y S2 disponen de 2 carriles cada una, y la celda de flujo S4 tiene cuatro carriles. Se adquieren imágenes de cada carril en varios sectores y, posteriormente, el software divide la imagen de cada sector en secciones de menor tamaño denominadas placas. Si desea obtener más información, consulte [Placas de la celda de flujo, en la página 82](#).

- i** | Si utiliza una celda de flujo S1, asegúrese de usar la versión 1.3.1 de NVCS o una versión posterior. Si utiliza una celda de flujo SP asegúrese de usar la versión 1.6 de NVCS o una versión posterior.

Figura 5 Celdas de flujo

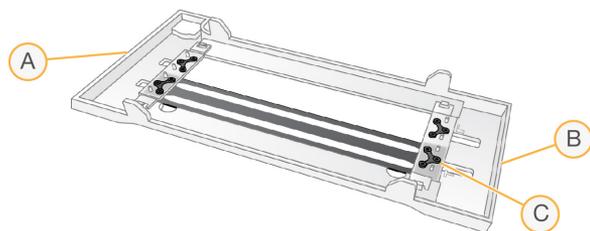


- A. Cartucho de la celda de flujo
- B. Celda de flujo de 4 carriles (S4)
- C. Celda de flujo de 2 carriles (SP, S1 y S2)

La parte inferior de las celdas de flujo cuenta con cuatro juntas. Las bibliotecas y los reactivos acceden a los carriles de la celda de flujo a través de las juntas del extremo de entrada de la celda de flujo. Los reactivos utilizados se expulsan de los carriles a través de las juntas del extremo de salida.

- i** | No toque las juntas cuando manipule la celda de flujo.

Figura 6 Celda de flujo volteada



- A. Extremo de salida
- B. Extremo de entrada
- C. Junta (una de cuatro)

Cartuchos de tampón, de grupos y de SBS

Los cartuchos de tampón, de grupos y de SBS de NovaSeq 6000 cuentan con depósitos con cierre metálico precargados con reactivos, tampones y solución de lavado. En el kit de reactivos se incluye un cartucho de cada tipo.

Los cartuchos se cargan directamente en el instrumento, y se codifican con colores y etiquetan para reducir los errores de carga. Las guías del cajón del refrigerador de reactivos y del cajón de tampón garantizan la orientación correcta.

La etiqueta de un cartucho incluye los modos admitidos, como S1/S2 o SP/S1/S2. Los cartuchos solo se pueden usar en los modos indicados en dicha etiqueta.

Tabla 7 Cartuchos de reactivos

Cartucho	Descripción
<p>Cartucho de tampón de NovaSeq 6000</p> 	<p>Precargado con tampones de secuenciación y con un peso de hasta 6,8 kg. Un mango de plástico facilita el transporte, la carga y la descarga. Las hendiduras en la placa superior permiten que los cartuchos se apilen.</p>

Cartucho	Descripción
<p>Cartucho de grupos de NovaSeq 6000</p> 	<p>Precargado con reactivos para la generación de grupos, el indexado y con reactivos “paired-end”, así como con solución de lavado. Incluye una posición designada para el tubo de bibliotecas. El etiquetado naranja distingue el cartucho de grupos del cartucho de SBS.</p>
<p>NovaSeq 6000 Cartucho de SBS</p> 	<p>Precargado con reactivos de secuenciación en volúmenes específicos para el número de ciclos que admite el kit (500, 300, 200, 100 o 35). Cada una de lastres posiciones de los reactivos tiene una posición contigua reservada para el lavado automático posterior al experimento. El etiquetado gris distingue el cartucho de SBS del cartucho de grupos.</p>

Depósitos de cartuchos de grupos

Depósito extraíble

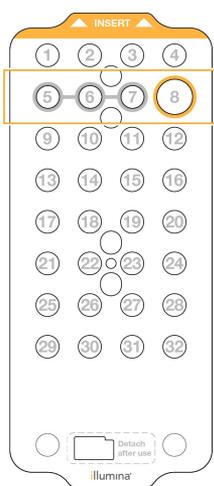
El reactivo de desnaturalización en la posición n.º 30 contiene formamida, que es una amida orgánica y una toxina reproductiva. Para garantizar un desecho seguro de cualquier reactivo no usado tras el experimento de secuenciación, se puede extraer este depósito.

i | No apile el cartucho de SBS encima del cartucho de grupos, ya que puede desacoplar la posición n.º 30.

Depósitos reservados

Hay reservados tres depósitos para cebadores personalizados y una posición vacía para el tubo de bibliotecas. Para la trazabilidad de las muestras, el tubo de bibliotecas se carga en el cartucho de grupos durante el proceso de configuración del experimento y permanece en el cartucho hasta la finalización del experimento.

Figura 7 Depósitos numerados



Position (Posición)	Reservado para
5, 6 y 7	Cebadores personalizados opcionales
8	Tubo de bibliotecas

Para obtener más información sobre los cebadores personalizados, consulte *Guía de cebadores personalizados NovaSeq Series* (n.º de documento 100000022266).

Componentes del kit de NovaSeq Xp

Cada kit de NovaSeq Xp es de un solo uso e incluye los siguientes componentes. Para garantizar un rendimiento adecuado, cuando reciba el kit, almacene sus componentes a la temperatura indicada lo antes posible.

i | Los consumibles DPX1 y DPX2 podrían aparecer identificados como JPX1 y JPX2, respectivamente. Todos ellos son compatibles con los kits de reactivos de la versión 1.0 o 1.5. DPX3 también es compatible con los kits de reactivos v1.0 y v1.5.

Tabla 8 Componentes del kit de NovaSeq Xp

Cantidad	Componente del kit	Temperatura de almacenamiento
1	DPX1/JPX1	Entre -25 °C y -15 °C
1	DPX2/JPX2	Entre -25 °C y -15 °C
1	DPX3	Entre -25 °C y -15 °C

Cantidad	Componente del kit	Temperatura de almacenamiento
1	Distribuidor de NovaSeq Xp	Déjelo con el kit o almacénelo a temperatura ambiente.

Reactivos del kit Xp

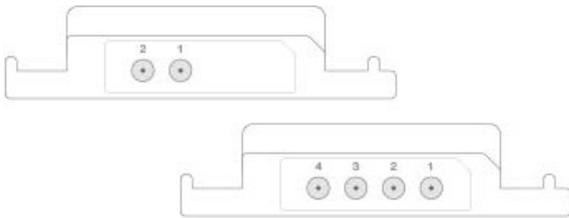
DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 y DPX3 son reactivos ExAmp suministrados en tubos individuales para el flujo de trabajo de NovaSeq Xp. La combinación de estos reactivos crea una mezcla maestra de ExAmp que se mezcla con los grupos de bibliotecas antes de cargarse en la celda de flujo.

Distribuidor de NovaSeq Xp

El distribuidor de NovaSeq Xp se sitúa en la plataforma de la celda de flujo de NovaSeq Xp para permitir la carga directa de los grupos de bibliotecas en los carriles individuales de la celda de flujo. Los brazos situados a ambos lados del distribuidor de NovaSeq Xp están diseñados para una fácil colocación en la plataforma.

NovaSeq Xp Los distribuidores se suministran con configuraciones de dos pocillos y cuatro pocillos para que coincida con las celdas de flujo de dos carriles y cuatro carriles. Cada pocillo se corresponde con un carril de la celda de flujo. Dado que la celda de flujo está cargada al revés en la plataforma de la celda de flujo de NovaSeq Xp, los pocillos están numerados de derecha a izquierda para que coincidan con la numeración de carriles de una celda de flujo invertida.

Figura 8 Distribuidor de NovaSeq Xp con pocillos numerados

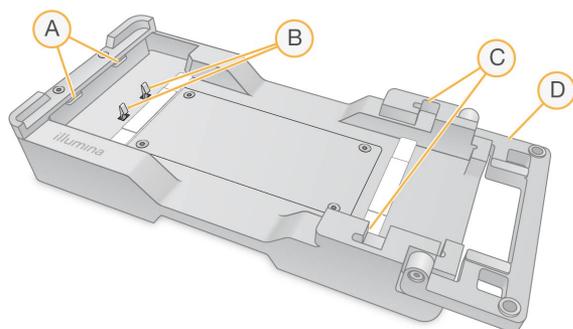


Plataforma de la celda de flujo de NovaSeq Xp

NovaSeq Xp La plataforma de la celda de flujo de es un accesorio reutilizable para la carga de bibliotecas directamente en una celda de flujo. La celda de flujo se voltea y se carga en la plataforma, y el distribuidor de NovaSeq Xp se ajusta sobre la celda de flujo.

Dos salientes (debajo del soporte) y dos muelles guían la inserción de la celda de flujo y garantizan su correcta orientación. Las ranuras sujetan los brazos del distribuidor de NovaSeq Xp con la debida orientación y una colocación pareja. Una abrazadera magnética se gira 180° para fijar el distribuidor de NovaSeq Xp sobre la celda de flujo.

Figura 9 Plataforma de la celda de flujo de NovaSeq Xp



- A. Salientes (debajo del soporte) para guiar la carga
- B. Muelles para alinear la celda de flujo
- C. Ranuras para sujetar los brazos del distribuidor de NovaSeq Xp
- D. Abrazadera para fijar la celda de flujo y el distribuidor de NovaSeq Xp

Consumibles y equipos proporcionados por el usuario

Los siguientes consumibles y equipos proporcionados por el usuario son necesarios para preparar los consumibles, realizar secuenciaciones y para el mantenimiento del sistema.

Consumibles

Consumible	Proveedor	Finalidad
1N NaOH	Proveedor de laboratorio general	Dilución a 0,2 N para la desnaturalización de bibliotecas.
Botella de centrifugado, 500 ml	Proveedor de laboratorio general	Dilución de Tween 20 para un lavado de mantenimiento.
Tubo de centrifugado, 30 ml	Proveedor de laboratorio general	Dilución de NaOCl para un lavado de mantenimiento.
Guantes desechables sin talco	Proveedor de laboratorio general	Usos múltiples.
Paños humedecidos en alcohol isopropilo al 70 % o Paños humedecidos en etanol al 70 %	VWR, n.º de catálogo 95041-714 o equivalente Proveedor de laboratorio general	Limpieza de componentes antes de un experimento y con fines generales.
Toallita de laboratorio sin pelusa	VWR, n.º de catálogo 21905-026, o equivalente	Secado de la platina de la celda de flujo y usos múltiples.

Consumible	Proveedor	Finalidad
Tubo de microcentrifugado, 1,5 ml	VWR, n.º de catálogo 20170-038 o equivalente	Combinación de volúmenes al diluir NaOH y la biblioteca.
NaOCl para reactivos al 5 %	Sigma-Aldrich, n.º de catálogo 239305	Realización de un lavado de mantenimiento.
Kit de reactivos NovaSeq 6000	Illumina, consulte Descripción general de los kits, en la página 13	Realización de un experimento de secuenciación.
Puntas de pipeta 20 µl	Proveedor de laboratorio general	Pipeteo para dilución y carga de bibliotecas.
Puntas de pipeta 200 µl	Proveedor de laboratorio general	Pipeteo para dilución y carga de bibliotecas.
Puntas de pipeta 1000 µl	Proveedor de laboratorio general	Pipeteo para dilución y carga de bibliotecas.
Reactivo o alcohol isopropilo de grado espectrofotométrico (99 %), botella de 100 ml	Proveedor de laboratorio general	Limpieza periódica de los componentes ópticos y soporte para el cartucho de limpieza.
Tris-HCL, pH 7.0	Proveedor de laboratorio general	Neutralización de bibliotecas desnaturalizadas.
Tween 20	Sigma-Aldrich, n.º de catálogo P7949	Realización de un lavado de mantenimiento.
Agua de laboratorio	Proveedor de laboratorio general	Dilución de NaOH para la desnaturalización de bibliotecas. Dilución de Tween 20 e hipoclorito sódico para un lavado de mantenimiento.
[Flujo de trabajo de NovaSeq Xp] Uno de los siguientes kits: <ul style="list-style-type: none"> • Kit de 2 carriles de NovaSeq Xp • Kit de 4 carriles de NovaSeq Xp 	Illumina: <ul style="list-style-type: none"> • N.º de catálogo 20021664 • N.º de catálogo 20021665 	Carga manual de bibliotecas en una celda de flujo: <ul style="list-style-type: none"> • Kit de 2 carriles para las celdas de flujo SP, S1 y S2 • Kit de 4 carriles para las celdas de flujo S4

Consumible	Proveedor	Finalidad
<p>[Flujo de trabajo de NovaSeq Xp] Uno de los siguientes kits:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kit de 2 carriles de NovaSeq Xp v1.5 • Kit de 4 carriles de NovaSeq Xp v1.5 	<p>Illumina:</p> <ul style="list-style-type: none"> • N.º de catálogo 20043130 • N.º de catálogo 20043131 	<p>Carga manual de bibliotecas en una celda de flujo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kit de 2 carriles para las celdas de flujo SP, S1 y S2 • Kit de 4 carriles para las celdas de flujo S4
<p>[Flujo de trabajo de NovaSeq Xp] Tubos de 0,5 ml y 1,7 ml</p>	<p>Proveedor de laboratorio general</p>	<p>Necesario para la mezcla de ExAmp.</p>
<p>[Flujo de trabajo de NovaSeq Xp] [Opcional] Uno de los siguientes paquetes de distribuidor:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Paquete de distribuidor de 2 carriles de NovaSeq Xp • Paquete de distribuidor de 4 carriles de NovaSeq Xp 	<p>Illumina:</p> <ul style="list-style-type: none"> • N.º de catálogo 20021666 • N.º de catálogo 20021667 	<p>Distribuidores de repuesto de NovaSeq Xp para la carga manual de bibliotecas en una celda de flujo.</p>
<p>[Opcional] PhiX Control v3</p>	<p>Illumina, n.º de catálogo FC-110-3001</p>	<p>Adición de control PhiX.</p>

Consumibles en los kits de Illumina

Se necesita Kit de reactivos NovaSeq 6000 para secuenciar una celda de flujo. Cada kit consta de varios consumibles, que se indican en la tabla siguiente. Para las celdas de flujo dobles, utilice dos kits.

Tabla 9 Consumibles en un Kit de reactivos NovaSeq 6000

Consumible (uno de cada)	Finalidad
Cartucho de tampón	Proporciona tampones de secuenciación para el experimento.
Cartucho de grupos	Proporciona reactivos "paired-end", de generación de grupos y de indexado para el experimento.
Celda de flujo	La reacción de generación de grupos y secuenciación se produce en la celda de flujo.
Cartucho de SBS	Proporciona reactivos de secuenciación para el experimento.

Consumible (uno de cada)	Finalidad
Tubo de bibliotecas	El tubo vacío que se utiliza para conservar las bibliotecas agrupadas y desnaturalizadas (suministradas por un cliente) o para preparar la mezcla acondicionadora para aumentar la eficacia de la generación de grupos para la secuenciación.

Si está siguiendo el flujo de trabajo de NovaSeq Xp para cargar las bibliotecas directamente en la celda de flujo, complete cada kit de reactivos con un kit de NovaSeq Xp. Cada kit de NovaSeq Xp consta de los siguientes consumibles.

i | Los consumibles DPX1 y DPX2 podrían aparecer identificados como JPX1 y JPX2, respectivamente. Todos ellos son compatibles con los kits de reactivos de la versión 1.0 o 1.5. DPX3 también es compatible con los kits de reactivos v1.0 y v1.5.

Tabla 10 Consumibles en un kit de NovaSeq Xp

Consumible (uno de cada)	Finalidad
DPX1/JPX1	Preparación de la mezcla maestra de ExAmp.
DPX2/JPX2	
DPX3	
Distribuidor de NovaSeq Xp	Carga de bibliotecas en la celda de flujo.

Directrices para el agua de laboratorio

Utilice siempre agua de laboratorio o agua desionizada para llevar a cabo los procedimientos del instrumento. No utilice nunca agua corriente. Utilice solamente los siguientes tipos de agua o equivalentes:

- Agua desionizada
- Illumina PW1
- Agua de 18 megaohmios (MΩ)
- Agua Milli-Q
- Agua Super-Q
- Agua de biología molecular

Equipo

Elemento	Proveedor
Congelador, entre -25 °C y -15 °C	Proveedor de laboratorio general

Elemento	Proveedor
Tubo graduado, 500 ml, estéril	Proveedor de laboratorio general
Cubitera	Proveedor de laboratorio general
Pipeta 20 µl	Proveedor de laboratorio general
Pipeta 200 µl	Proveedor de laboratorio general
Pipeta 1000 µl	Proveedor de laboratorio general
Frigorífico, entre 2 °C y 8 °C	Proveedor de laboratorio general
Cubo, baños de agua*	Proveedor de laboratorio general
[Flujo de trabajo de NovaSeq Xp] Plataforma de la celda de flujo de NovaSeq Xp	Illumina, n.º de catálogo 20021663

* Utilice un cubo que pueda alojar dos cartuchos de reactivos y el nivel de agua apropiado. Por ejemplo, 61 cm × 91,4 cm × 25,4 cm (24 in × 36 in × 10 in).

Descripción de símbolos

La tabla siguiente describe los símbolos que aparecen en los consumibles o el embalaje de los consumibles.

Símbolo	Descripción
	La fecha en que caduca el consumible. Para unos resultados óptimos, utilice el consumible antes de esta fecha.
	Indica el fabricante (Illumina).
	El uso previsto es Solo para uso en investigaciones (RUO).
	Indica el número de referencia para poder identificar el consumible. ¹
	Indica el código de lote para identificar el lote en que se fabricó el consumible. ¹

Símbolo	Descripción
	Indica el número de serie.
	Indica que se requiere protección de la luz o del calor. Almacenar lejos de la luz solar.
	Indica un peligro para la salud.
	Indica una advertencia de peligro.
	Intervalo de temperatura de almacenamiento en grados Celsius. Almacene el consumible dentro del rango indicado. ²

¹ REF indica el componente individual; mientras que LOT identifica el lote al que pertenece el componente.

² La temperatura de almacenamiento puede diferir de la temperatura de envío.

Configuración del sistema

La primera vez que se enciende el sistema, se ejecuta Software de control NovaSeq con una serie de pantallas para guiarle en la primera configuración. La primera configuración incluye realizar una verificación del sistema para confirmar el rendimiento del instrumento y configurar los ajustes del sistema.

Si desea modificar la configuración del sistema después de la primera configuración, seleccione el comando System Settings (Configuración del sistema) en el software de control. El comando abre las pestañas Settings (Configuración), Network Access (Acceso a la red) y Customization (Personalización), donde puede acceder a todos los ajustes del software de control y a los ajustes de red de Windows.

Cuentas del sistema operativo

Para obtener información sobre las cuentas del sistema operativo y la contraseña, consulte [Requisitos de las contraseñas, en la página 90](#) y [Seguridad y conexión de red](#).

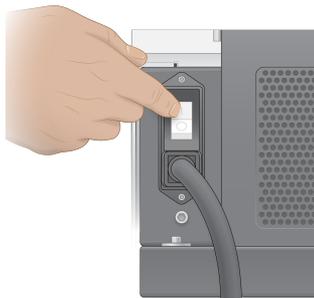
Experimentos de validación

De manera opcional, realice un experimento de validación antes de llevar a cabo la secuenciación de bibliotecas experimentales por primera vez. Un experimento de validación secuencia PhiX al 100 %, que funciona como biblioteca de control, para confirmar el funcionamiento del sistema. Para obtener instrucciones, consulte [Secuenciación, en la página 54](#).

Puesta en servicio del instrumento

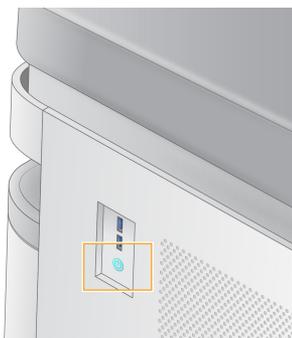
1. Pulse el lado de encendido (I) del interruptor en la parte trasera del instrumento.

Figura 10 Ubicación del interruptor de alimentación



2. Espere hasta que el botón de encendido en el lado derecho del instrumento se encienda en color azul y, a continuación, púlselo.

Figura 11 Ubicación del botón de alimentación



Cuentas de usuario

En NVCS v1.5 y versiones posteriores, existen dos tipos de cuentas: de administrador y de usuario. En la tabla siguiente se muestran los permisos de cada tipo.

Permisos	Administrador	Usuario
Configurar, iniciar y supervisar experimentos de secuenciación	X	X
Descargar y actualizar el software	X	
Ver el estado de un experimento activo iniciado por otro usuario	X	
Finalizar un proceso de UCS que no responde	X	

Los archivos de datos de la aplicación se almacenan en C:/ProgramData. Las aplicaciones se instalan en C:/Archivos de programa. NVCS se inicia como aplicación a pantalla completa con ambos tipos de cuenta.

Iniciar sesión en el sistema

1. Cuando se cargue el sistema operativo, inicie sesión en Windows con el nombre de usuario y la contraseña de su centro.
2. Abra NVCS.
El software se abre e inicia el sistema. Una vez terminada la inicialización, aparecerá la pantalla Home (Inicio). NVCS se inicia como una aplicación de usuario. Si trata de usar alguna función que necesite permisos de administrador, como, por ejemplo, Software Update (Actualización de software), y no ha iniciado sesión como administrador, se le pedirá que lo haga.

Para mantenerse al tanto sobre el progreso de un experimento de secuenciación, debe mantener la sesión iniciada mientras NVCS se esté ejecutando y haya un experimento de secuenciación en curso.

Configuración de ajustes

NVCS incluye ajustes para las siguientes configuraciones:

- Modo de experimento (manual o basado en archivos)
- Flujo de trabajo de NovaSeq Xp
- Alojamiento en la nube (BaseSpace Sequence Hub o Illumina Connected Analytics)
- Actualizaciones de software

i | Antes de configurar la selección de flujo de trabajo o las comprobaciones automáticas de las actualizaciones de software, asegúrese de que se ha configurado Mode Selection (Selección de modo).

Modos de configuración del experimento

- **Manual:** el modo predeterminado que envía datos a una carpeta de resultados especificada para futuros análisis.
- **Basado en archivos:** un modo que utiliza archivos de BaseSpace Clarity LIMS u otro sistema de LIMS para definir los parámetros del experimento. Si desea obtener más información, consulte [Configuración de resultado del LIMS, en la página 31](#).
- **Basado en servidor:** modo que utiliza una URL del servidor LIMS para definir los parámetros del experimento.

Cuando ajuste el modo de configuración del experimento, asegúrese de especificar una ubicación existente para la carpeta de configuración del experimento. Esta carpeta es obligatoria, y un mensaje de ubicación no válida indica que la ubicación especificada no existe.

Todos los modos de configuración del experimento incluyen la opción de enviar datos a BaseSpace Sequence Hub o Illumina Connected Analytics para el almacenamiento y análisis de datos.

Configuración del modo manual

1. En el menú principal, seleccione **Settings** (Configuración).
La pantalla Settings (Configuración) se abre en la ficha Mode Selection (Selección de modo).
2. Seleccione **Manual**.
3. **[Opcional]** Introduzca la ubicación de red que desee o navegue hasta ella para especificar la carpeta de resultados.
No especifique una ubicación en la unidad C, D o Z. Si lo hace, se producirá el error de unidad “no válido”.

Este ajuste es la ubicación predeterminada. La ubicación de la carpeta de resultados puede cambiarse en cada experimento.

4. **[Opcional]** Seleccione la opción **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Enviar datos de rendimiento del instrumento a Illumina) para activar el servicio de supervisión Illumina Proactive. El nombre del ajuste en la interfaz del software puede ser diferente al que se indica en esta guía, en función de la versión de NVCS en uso.

Con este ajuste activado, se envían los datos de rendimiento del instrumento a Illumina. Estos datos ayudan a Illumina a solucionar problemas de forma más sencilla y a detectar posibles fallos, lo que permite llevar a cabo tareas de mantenimiento proactivo y maximizar el tiempo de actividad del instrumento. Para obtener más información sobre las ventajas de este servicio, consulte la *nota técnica de Illumina Proactive (n.º de documento 1000000052503)*.

Tenga en cuenta lo siguiente en relación con este servicio:

- No envía datos de secuenciación.
- Requiere que el instrumento esté conectado a una red con acceso a Internet.
- Está activado de manera predeterminada. Para desactivar este servicio, desactive el ajuste **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Enviar datos de rendimiento del instrumento a Illumina).

5. Seleccione **Save** (Guardar).

Configuración del modo basado en archivos

1. En el menú principal, seleccione **Settings** (Configuración).

La pantalla Settings (Configuración) se abre en la ficha Mode Selection (Selección de modo).

2. Seleccione **File-Based** (Basado en archivos).

3. Introduzca la ubicación de red que desee o navegue hasta ella para especificar la carpeta de configuración del experimento, que contiene los archivos del LIMS.

Asegúrese de que se hayan añadido los archivos del LIMS correctos a la carpeta de configuración del experimento antes de configurar un experimento. Durante la configuración del experimento, el software utiliza el ID del tubo de bibliotecas o el de la celda de flujo para localizar los archivos del experimento en curso.

4. **[Opcional]** Introduzca la ubicación de red que desee o navegue hasta ella para especificar la carpeta de resultados.

No especifique una ubicación en la unidad C, D o Z. Si lo hace, se producirá el error de unidad "no válido".

La ubicación de la carpeta de resultados puede cambiarse en cada experimento.

5. **[Opcional]** Seleccione la opción **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Enviar datos de rendimiento del instrumento a Illumina) para activar el servicio de supervisión Illumina Proactive. El nombre del ajuste en la interfaz del software puede ser diferente al que se indica en esta guía, en función de la versión de NVCS en uso.

Con este ajuste activado, se envían los datos de rendimiento del instrumento a Illumina. Estos datos ayudan a Illumina a solucionar problemas de forma más sencilla y a detectar posibles fallos, lo que permite llevar a cabo tareas de mantenimiento proactivo y maximizar el tiempo de actividad del instrumento. Para obtener más información sobre las ventajas de este servicio, consulte la *nota técnica de Illumina Proactive (n.º de documento 1000000052503)*.

Tenga en cuenta lo siguiente en relación con este servicio:

- No envía datos de secuenciación.
- Requiere que el instrumento esté conectado a una red con acceso a Internet.
- Está activado de manera predeterminada. Para desactivar este servicio, desactive el ajuste **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Enviar datos de rendimiento del instrumento a Illumina).

Cuando está habilitada, para esta opción hace falta una conexión externa a Internet.

6. Seleccione **Save** (Guardar).

Configuración de resultado del LIMS

Si su sistema está configurado para el modo basado en archivos y utiliza un software de LIMS que no sea BaseSpace Clarity LIMS, configure el LIMS para generar un archivo de configuración del experimento en formato JSON. En el flujo de trabajo estándar, el nombre de archivo debe coincidir con el ID del tubo de bibliotecas. El ID de la celda de flujo en el archivo puede dejarse en blanco. En el flujo de trabajo de NovaSeq Xp, el nombre de archivo debe coincidir con el ID de la celda de flujo, y el ID de la celda de flujo y el ID de la biblioteca deben especificarse en el archivo. El nombre de archivo y los valores no distinguen entre mayúsculas y minúsculas.

El software LIMS externo puede usar la API del LIMS de NovaSeq para interactuar con el NovaSeq 6000. Póngase en contacto con el servicio técnico de Illumina para obtener más información sobre los criterios de valoración de API o el modo basado en servidor LIMS.

Nombre del campo	Value (Valor)
run_name	El nombre de experimento que se desee, puede contener caracteres alfanuméricos, guiones y guiones bajos.
run_mode	Uno de los modos siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • S1 • SP • S2 • S4
workflow_type	NoIndex, SingleIndex o DualIndex
librarytube_ID	La RFID del tubo de biblioteca
sample_loading_type	NovaSeq Standard o NovaSeq Xp

Nombre del campo	Value (Valor)
Flowcell_ID	La ID de la celda de flujo
paired_end	Verdadero o Falso
read1	Un valor de hasta 251 (ciclos adicionales de lecturas UMI posibles hasta 259)
read2	Un valor de hasta 251 (ciclos adicionales de lecturas UMI posibles hasta 259)
index_read1	Cualquier valor
index_read2	Cualquier valor
output_folder	La ruta a la carpeta de resultado con dos barras inversas para una secuencia de escape
Hoja de muestras	La ruta a una hoja de muestras u otro archivo en formato CSV (*.csv) con dos barras inversas para una secuencia de escape
use_basespace	Verdadero o Falso
basespace_mode	RunMonitoringOnly o RunMonitoringAndStorage
use_custom_read1_primer	Verdadero o Falso
use_custom_read2_primer	Verdadero o Falso
use_custom_index_read1_primer	Verdadero o Falso
use_custom_index_read2_primer	Verdadero o Falso

* La rehibridación no está disponible en NVCS v1.4.0 ni en versiones anteriores.

Archivo JSON de ejemplo, llamado 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": verdadero,
"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": falso,
"basespace_mode": nulo,
"use_custom_read1_primer": falso,
"use_custom_read2_primer": falso,
"use_custom_index_read1_primer": falso
}
```

Configurar ciclos de índices predeterminados

A continuación, se explica cómo configurar el número predeterminado de ciclos de índices en el flujo de trabajo de NovaSeq Standard.

1. En el menú principal, seleccione **Settings** (Configuración).
La pantalla Settings (Configuración) se abre en la ficha Mode Selection (Selección de modo).
2. Seleccione la ficha **Workflow Selection** (Selección de flujo de trabajo).
3. Introduzca el número predeterminado de ciclos de índices en el campo **Index Cycles** (Ciclos de índices).
4. Seleccione **Save** (Guardar).

Flujos de trabajo de NovaSeq Standard y NovaSeq Xp

Los flujos de trabajo de NovaSeq Standard y NovaSeq Xp utilizan las composiciones químicas de ExAmp exclusivas de Illumina.

Flujo de trabajo de NovaSeq Standard

El flujo de trabajo de NovaSeq Standard automatiza dos pasos fundamentales de la química de grupos de ExAmp exclusiva de Illumina en el instrumento.

- Preparación de la mezcla maestra de ExAmp
- Entrega de la mezcla maestra a la celda de flujo

La preparación y entrega incorporadas de la mezcla maestra minimizan la interacción del usuario y reducen la variabilidad de la mezcla preparada.

Dentro del proceso de configuración del experimento para el flujo de trabajo de NovaSeq Standard, se inserta un tubo de bibliotecas que contiene el grupo de bibliotecas naturalizadas y desnaturalizadas a la concentración recomendada en la posición n.º 8 del cartucho de grupos. Para obtener información sobre las concentraciones recomendadas, consulte [Generador de protocolos de desnaturalización y dilución](#). Después de iniciar el experimento, tienen lugar en el instrumento los pasos siguientes sin que

se requiera la interacción del usuario. Esto incluye la transferencia de reactivos ExAmp desde el cartucho de grupos hasta el tubo de bibliotecas, la preparación de la mezcla de grupos de bibliotecas y reactivos, así como el suministro de la mezcla preparada a todos los carriles de la celda de flujo.

Tras la generación de grupos integrada, se llevan a cabo varios pasos comunes a ambos flujos de trabajo. Estos pasos incluyen la aplicación de una mezcla acondicionadora a la celda de flujo agrupada y otros pasos del proceso químico para preparar los grupos para la secuenciación por síntesis. La mezcla acondicionadora se prepara durante el proceso de generación de grupos utilizando los reactivos en el cartucho de grupos, y el tubo de bibliotecas se inserta durante la configuración del experimento. La mezcla acondicionadora ayuda a aumentar la eficacia de la generación de grupos en el instrumento NovaSeq 6000.

Flujo de trabajo de NovaSeq Xp

El flujo de trabajo de NovaSeq Xp permite la carga de diferentes bibliotecas o grupos de bibliotecas en carriles independientes de la celda de flujo NovaSeq, utilizando la plataforma de la celda de flujo NovaSeq Xp y un kit de consumibles específico para celdas de flujo (kit de dos carriles de NovaSeq Xp o kit de cuatro carriles de NovaSeq Xp). El kit NovaSeq Xp contiene reactivos ExAmp necesarios para la generación de grupos y el distribuidor NovaSeq Xp requerido para la carga en los carriles.

La mezcla de ExAmp o de bibliotecas se prepara y se carga en los carriles individuales de la celda de flujo de NovaSeq Xp utilizando tanto la plataforma de la celda de flujo como el distribuidor NovaSeq Xp. Puede usarse un controlador de líquidos automatizado para la preparación de la mezcla de ExAmp o de bibliotecas y suministrarse al distribuidor para el autollenado de las celdas de flujo. Cuando se termina la carga de la muestra en la celda de flujo, se inserta un tubo de bibliotecas vacío en la posición n.º 8 del cartucho de grupos, se coloca la celda de flujo en el instrumento y se inicia el experimento de secuenciación.

Después de que se inicie el experimento, se llevan a cabo varios pasos comunes a ambos flujos de trabajo. Estos pasos incluyen la aplicación de una mezcla acondicionadora a la celda de flujo agrupada y otros pasos del proceso químico para preparar los grupos para la secuenciación por síntesis. La mezcla acondicionadora se prepara durante el proceso de generación de grupos utilizando los reactivos en el cartucho de grupos y se mezcla en el tubo de bibliotecas vacío insertado durante la configuración del experimento. La mezcla acondicionadora ayuda a aumentar la eficacia de la generación de grupos en el instrumento NovaSeq 6000.

Configuración del flujo de trabajo de NovaSeq Xp

1. En el menú principal, seleccione **Settings** (Configuración).
La pantalla Settings (Configuración) se abre en la ficha Mode Selection (Selección de modo).
2. Seleccione la ficha **Workflow Selection** (Selección de flujo de trabajo).
3. Para activar el flujo de trabajo de NovaSeq Xp, seleccione **Enable Workflow Selection** (Activar selección de flujo de trabajo).
4. **[Opcional]** Para convertir NovaSeq Xp en el flujo de trabajo predeterminado, seleccione **NovaSeq Xp**.
5. Seleccione **Save** (Guardar).

Configurar las opciones de nube

Utilice las siguientes instrucciones para configurar los ajustes predeterminados para conectarse a la nube. Durante la configuración del experimento, puede deshabilitar las opciones de nube para el experimento actual o cambiar los ajustes para la supervisión y el almacenamiento del experimento. Conectarse a BaseSpace Sequence Hub o Illumina Connected Analytics requiere una conexión a Internet.

1. En el menú principal, seleccione **Settings** (Configuración).
La pantalla Settings (Configuración) se abre en la ficha Mode Selection (Selección de modo).
2. Seleccione la casilla de verificación **Illumina Opciones de nube**.
3. En la configuración, elija entre las siguientes opciones:
 - **Run Monitoring and Storage** (Almacenamiento y supervisión del experimento): envía datos del experimento a la opción de alojamiento en la nube seleccionada para la supervisión y análisis remotos. Esta opción necesita la carga de una hoja de muestras con el experimento.
 - **Run Monitoring Only** (Solo supervisión de experimentos): envía los archivos del experimento InterOp, de registro y otros archivos que no sean CBCL a BaseSpace Sequence Hub de forma que los experimentos se puedan supervisar de manera remota.
4. En el menú desplegable Hosting Location (Ubicación de alojamiento), seleccione **EU (Frankfurt)** (UE [Fráncfort]) o **USA (N. Virginia)** (EE. UU. [N. Virginia]).
Esta opción determina la ubicación de carga de los datos.
5. Si tiene una suscripción Enterprise para BaseSpace Sequence Hub o Illumina Connected Analytics, haga lo siguiente.
 - a. Seleccione la casilla de verificación **Private Domain** (Dominio privado).
 - b. Introduzca el nombre de dominio utilizado para el inicio de sesión único en BaseSpace Sequence Hub o Illumina Connected Analytics.
6. Seleccione **Save** (Guardar).

Nombre de la hoja de muestras

Al ejecutar NVCS v1.3.1 o una versión anterior, debe asignarse el nombre de SampleSheet.csv (con distinción entre mayúsculas y minúsculas) a una hoja de muestras utilizada para un experimento y cargada en BaseSpace Sequence Hub. Si la hoja de muestras tiene un nombre incorrecto, y está habilitada la supervisión y el almacenamiento del experimento, BaseSpace Sequence Hub marca el experimento con una advertencia. Para poner en cola un experimento marcado para generación de FASTQ, seleccione **More > Fix Sample Sheet and Requeue** (Más > Solucionar hoja de muestras y volver a poner en cola) y luego introduzca la hoja de muestras adecuada. Hasta que se proporcione la hoja de muestras, los datos de secuenciación no se pueden convertir en archivos de FASTQ.

Si está ejecutando NVCS v1.4 o alguna versión posterior, no hay ninguna limitación para los nombres de las hojas de muestras.

Si utiliza el bcl2fastq2 Conversion Software v2.19 o posterior, para convertir datos a archivos FASTQ localmente, puede usar la opción de línea de comandos `--sample-sheet` para especificar un archivo CSV en cualquier ubicación. La línea de comandos permite el uso de cualquier nombre de archivo.

Configurar actualizaciones de software

La búsqueda automática de actualizaciones de software está habilitada de forma predeterminada. Puede deshabilitar o habilitar la búsqueda automática de actualizaciones en Settings (Configuración).

1. En el menú principal, seleccione **Settings** (Configuración).
2. Seleccione **Software Update** (Actualización de software).
3. Seleccione la casilla **If enabled, the instrument will display a notification when a Software Update is available** (Si está habilitado, el instrumento mostrará una notificación cuando haya una actualización de software disponible).
4. Seleccione **Save** (Guardar).

Flujo de trabajo estándar: Preparación de consumibles

Prácticas recomendadas

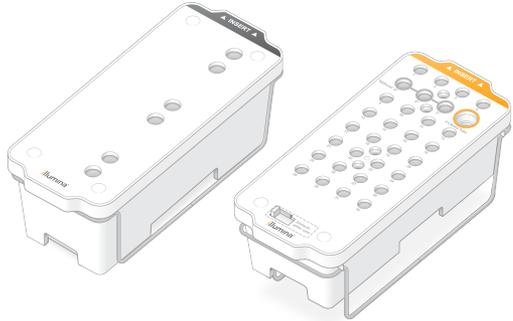
- Asegúrese de que dispone de los consumibles y equipos necesarios. Consulte [Consumibles y equipos proporcionados por el usuario, en la página 21](#).
- Compruebe siempre la etiqueta cuando prepare consumibles para garantizar la compatibilidad entre componentes. No mezcle ni empareje componentes de SP, S1, S2 y S4.
- No mezcle las versiones de los kits de reactivos.
 - Los cartuchos de SBS y CPE de la versión 1.0 solo se deben emparejar entre sí.
 - Los cartuchos de SBS y CPE de la versión 1.5 solo se deben emparejar entre sí.
- Al retirar el cartucho de SBS del envase, inspecciónelo visualmente para detectar si tiene grietas.
- Siga las instrucciones en el orden mostrado, con los volúmenes, las concentraciones, las temperaturas y las duraciones que se especifiquen.
- A menos que se haya especificado un punto de parada en el protocolo, continúe inmediatamente con el siguiente paso.

Descongelación de cartuchos de SBS y de grupos

1. Si hay un experimento de secuenciación en curso, asegúrese de que ambas partes del instrumento estén disponibles cuando se complete la descongelación.
2. Retire los cartuchos de SBS y de grupos, que están almacenados a una temperatura de entre $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- Coloque cada cartucho en una gradilla de descongelación de rejilla.
Las gradillas se suministran con el instrumento y evitan vuelcos en el baño de agua.

Figura 12 Cartuchos en gradillas de descongelación de rejilla



- Introdúzcalos en un baño con agua a temperatura ambiente (entre 19 °C y 25 °C) hasta que se descongelen.
Sumérjalos hasta la mitad aproximadamente.

- Utilice la siguiente tabla para determinar la duración de la descongelación.

! El uso de agua caliente para descongelar reactivos podría reducir la calidad de los datos o provocar fallos en el experimento.

Cartucho	Duración de la descongelación
Cartucho de SBS SP, S1 y S2	4 horas
Cartucho de grupos SP, S1 y S2	Hasta 2 horas
Cartucho de SBS S4	4 horas
Cartucho de grupos S4	Hasta 4 horas

- Seque por completo las bases de los cartuchos utilizando papeles absorbentes. Seque entre los pocillos de forma que se elimine toda el agua.
- Inspeccione las láminas metálicas de cierre en busca de agua. Si hay agua, séquela con una toallita sin pelusa.
- Inspeccione la parte inferior de cada cartucho para asegurarse de que los depósitos no tengan hielo, lo que indica que los reactivos están descongelados.
- Voltee cada cartucho 10 veces para mezclar los reactivos.
- Golpee suavemente el fondo de cada cartucho en la mesa para reducir las burbujas de aire.
- Si no se puede cargar el cartucho de reactivos en el instrumento en las 4 horas siguientes, almacénelo a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C durante 24 horas como máximo o vuelva a colocarlo en el almacenamiento a entre -25 °C y -15 °C. Después de descongelarlo, no vuelva a congelarlo más de una vez.

Vaciado de botellas de reactivos usados

Siga las instrucciones que aparecen a continuación para vaciar las botellas de reactivos utilizados en *cada* experimento de secuenciación. La botella grande debe estar colocada.

! Este conjunto de reactivos contiene sustancias químicas que pueden ser peligrosas. Evite su inhalación, su ingestión y el contacto con la piel o los ojos, puesto que pueden provocar lesiones. La ventilación debe ser adecuada para la manipulación de materiales peligrosos en los reactivos. Utilice un equipo de protección, incluidos gafas, guantes y batas de laboratorio adecuados para el riesgo de exposición. Manipule los reactivos usados como residuos químicos y deséchelos de conformidad con las normativas y leyes regionales, nacionales y locales aplicables. Para obtener más información sobre seguridad, salud y medioambiente, consulte la SDS en support.illumina.com/sds.html.

1. Retire y vacíe la botella pequeña de reactivos utilizados como se indica a continuación.
 - a. Levante la palanca y retire la botella pequeña de reactivos utilizados del hueco. Sujete la botella por los lados.
 - b. Retire la tapa roscada del soporte correspondiente situado en la parte delantera de la botella.
 - c. Selle la abertura de la botella con la tapa para evitar que se derrame.
 - d. Mantenga el contenido apartado del contenido de la otra botella y deséchelo de conformidad con las normativas aplicables de su región.
 - e. Vuelva a colocar la botella destapada en el hueco y baje la palanca. Guarde la tapa en el soporte destinado a tal efecto.
2. Retire y vacíe la botella grande de reactivos utilizados como se indica a continuación.
 - a. Con la ayuda del mango superior, retire la botella grande de reactivos utilizados del lado izquierdo del cajón de tampón.
 - b. Retire la tapa roscada del soporte correspondiente situado en la parte delantera de la botella.
 - c. Selle la abertura de la botella con la tapa para evitar que se derrame.
 - d. Deseche el contenido de conformidad con las normativas pertinentes para su región. Sujete los mangos durante el vaciado.
 - e. Vuelva a colocar la botella destapada en el cajón de tampón. Guarde la tapa en el soporte destinado a tal efecto.

Figura 13 Devolución de la botella vacía



3. Utilice un nuevo par de guantes sin talco.
4. Cierre el cajón de tampón y, después, cierre las puertas del compartimento de líquidos.

! Si no vacía las botellas de reactivos utilizados puede interrumpir el experimento y producirse un desbordamiento, lo que dañaría el instrumento y constituiría un riesgo para la seguridad.

Preparación de la celda de flujo

1. Extraiga un nuevo embalaje de celda de flujo de su almacenamiento a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.
2. Deje el paquete de la celda de flujo sellado a temperatura ambiente durante 10-15 minutos. Utilice la celda de flujo en un plazo de 12 horas desde su extracción del embalaje.

Agrupación y desnaturalización de bibliotecas para la secuenciación

La concentración de carga puede variar en función de los métodos de preparación, cuantificación y normalización de genotecas. Para obtener instrucciones, consulte [Generador de protocolos de desnaturalización y dilución](#). Cuando la biblioteca agrupada esté lista, continúe con [Preparación de cartuchos de SBS y de grupos](#), en la página 41.

! Solamente debe almacenar el tubo de bibliotecas si es necesario. Si se almacena durante un periodo prolongado a entre -25 °C y -15 °C, los duplicados pueden aumentar, pero disminuye el rendimiento.

Preparación de cartuchos de SBS y de grupos

1. Inspeccione la parte inferior de cada cartucho para asegurarse de que los depósitos no tengan hielo, lo que indica que los reactivos están descongelados.
2. Voltee cada cartucho 10 veces para mezclar los reactivos.
3. Golpee suavemente el fondo de cada cartucho en la mesa para reducir las burbujas de aire.

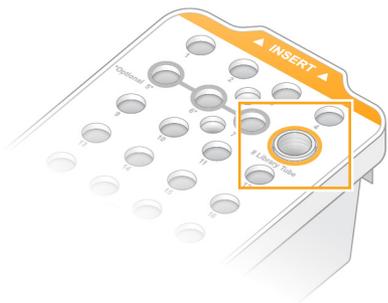
Preparación de cebadores personalizados

Si su biblioteca requiere cebadores personalizados, prepárelos siguiendo las instrucciones de *Guía de cebadores personalizados NovaSeq Series* (n.º de documento 1000000022266).

Carga del tubo de bibliotecas

1. Sin alterar la biblioteca en el fondo del tubo, introduzca el tubo de bibliotecas destapado que contiene la agrupación de bibliotecas desnaturalizadas y diluidas en la posición **Library Tube** (Tubo de bibliotecas) (posición n.º 8) del cartucho de grupos.
2. Inserte el tubo de bibliotecas en la posición n.º 8 del cartucho de grupos.

Figura 14 Tubo de bibliotecas destapado en la posición n.º 8



Flujo de trabajo de NovaSeq Xp: Preparación de consumibles

Resumen de flujo de trabajo de NovaSeq Xp

Antes de empezar a preparar muestras o consumibles, asegúrese de que la versión de NVCS cumpla los requisitos mínimos de software enumerados en la siguiente tabla.

Tabla 11 Requisitos mínimos de software

Celda de flujo	Versión mínima del software del kit de reactivos: v1.0	Versión mínima del software del kit de reactivos: v1.5
SP	1.6	1.7
S1	1.3.1	1.7
S2	Todas	1.7
S4	1.2.0	1.7

i | NVCS permite iniciar experimentos nuevos de forma escalonada. Consulte [Inicio escalonado de experimentos](#), en la página 64.

Asegúrese de que completa todos los pasos del flujo de trabajo de NovaSeq Xp, en el orden especificado.

i | Los pasos del 1 al 4 pueden realizarse en paralelo, y deberán terminarse antes de continuar con el paso 5.

1. Descongele los cartuchos de SBS y de grupos.
2. Vacíe las botellas de reactivos utilizados.
3. Deje a un lado el embalaje de la celda de flujo cerrado entre 10 y 15 minutos para que la celda de flujo alcance la temperatura ambiente. Utilice la celda de flujo en un plazo de 12 horas desde su extracción del embalaje.
4. Normalice y agrupe las bibliotecas y, si lo desea, añada control PhiX conforme al protocolo pertinente para sus bibliotecas en el [Generador de protocolos de desnaturalización y dilución](#).

i | Realice los pasos del 5 al 11 en el orden especificado.

5. Descongele los reactivos ExAmp.
6. Prepare una dilución nueva de NaOH de acuerdo con el [Generador de protocolos de desnaturalización y dilución](#).

7. Desnaturalice y neutralice el grupo de bibliotecas de acuerdo con el [Generador de protocolos de desnaturalización y dilución](#).
8. Prepare la celda de flujo y la plataforma.
9. Prepare la mezcla maestra de ExAmp.
10. Cargue la mezcla de ExAmp o de bibliotecas en la celda de flujo.
11. Cargue un tubo de bibliotecas vacío en la posición n.º 8 del cartucho de grupos.

Métodos

- Asegúrese de que dispone de los consumibles y equipos necesarios. Consulte [Consumibles y equipos proporcionados por el usuario](#), en la página 21.
 - Asegúrese de que el instrumento está encendido y tiene suficiente espacio de almacenamiento para el experimento. Consulte la sección [Gestión del proceso](#), en la página 11.
 - Asegúrese de que se termina el lavado automático posterior al experimento, en ambos lados del instrumento, antes de iniciar el paso *Descongele los reactivos ExAmp* del [Resumen de flujo de trabajo de NovaSeq Xp](#), en la página 42.
 - Compruebe siempre la etiqueta cuando prepare consumibles para garantizar la compatibilidad entre componentes. No mezcle los componentes de SP, S1, S2 y S4, ni los componentes de celdas de flujo de dos y cuatro carriles, en un lado del instrumento.
 - No mezcle las versiones de los kits de reactivos.
 - Los cartuchos de SBS y CPE de la versión 1.0 solo se deben emparejar entre sí.
 - Los cartuchos de SBS y CPE de la versión 1.5 solo se deben emparejar entre sí.
 - Al retirar el cartucho de SBS del envase, inspecciónelo visualmente para detectar si tiene grietas.
 - Siga las instrucciones en el orden mostrado, con los volúmenes, las temperaturas y las duraciones que se especifiquen.
 - Cuando no esté mezclando de manera activa, meta todos los reactivos y bibliotecas en hielo.
 - A menos que se haya especificado un punto de parada en el protocolo, continúe inmediatamente con el siguiente paso.
 - Para iniciar correctamente la secuenciación de una celda de flujo de 2 carriles, ambos carriles deberán estar llenos. Para iniciar como es debido la secuenciación de una celda de flujo de 4 carriles, uno de los carriles podrá estar parcialmente lleno o vacío.
 - Las causas más comunes de las variaciones en los resultados cuando se mezclan los reactivos ExAmp manualmente son la entrega imprecisa de volúmenes de componentes ExAmp y una mezcla insuficiente. No mezcle menos de lo normal.
- i** | Inicie el experimento de secuenciación en cuanto haya cargado las bibliotecas en la celda de flujo, preferiblemente, antes de que transcurran 30 minutos.

Descongelación de cartuchos de SBS y de grupos

1. Si hay un experimento de secuenciación en curso, asegúrese de que ambas partes del instrumento estén disponibles cuando se complete la descongelación.
2. Retire los cartuchos de SBS y de grupos, que están almacenados a una temperatura de entre $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
3. Coloque cada cartucho en una gradilla de descongelación de rejilla.
Las gradillas se suministran con el instrumento y evitan vuelcos en el baño de agua.

Figura 15 Cartuchos en gradillas de descongelación de rejilla



4. Introdúzcalos en un baño con agua a temperatura ambiente (entre $19\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) hasta que se descongelen.
Sumérjalos hasta la mitad aproximadamente.

5. Utilice la siguiente tabla para determinar la duración de la descongelación.

! El uso de agua caliente para descongelar reactivos podría reducir la calidad de los datos o provocar fallos en el experimento.

Cartucho	Duración de la descongelación
Cartucho de SBS SP, S1 y S2	4 horas
Cartucho de grupos SP, S1 y S2	Hasta 2 horas
Cartucho de SBS S4	4 horas
Cartucho de grupos S4	Hasta 4 horas

6. Seque por completo las bases de los cartuchos utilizando papeles absorbentes. Seque entre los pocillos de forma que se elimine toda el agua.
7. Inspeccione las láminas metálicas de cierre en busca de agua. Si hay agua, séquela con una toallita sin pelusa.
8. Inspeccione la parte inferior de cada cartucho para asegurarse de que los depósitos no tengan hielo, lo que indica que los reactivos están descongelados.
9. Voltee cada cartucho 10 veces para mezclar los reactivos.

10. Golpee suavemente el fondo de cada cartucho en la mesa para reducir las burbujas de aire.
11. Si no se puede cargar el cartucho de reactivos en el instrumento en las 4 horas siguientes, almacénelo a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C durante 24 horas como máximo o vuelva a colocarlo en el almacenamiento a entre -25 °C y -15 °C. Después de descongelarlo, no vuelva a congelarlo más de una vez.

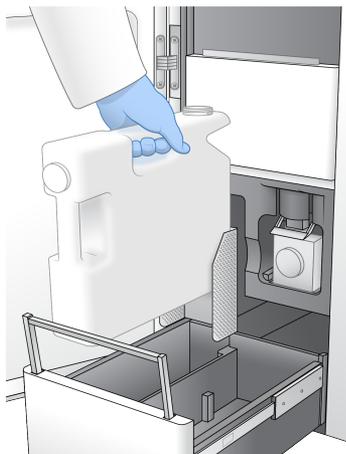
Vaciado de botellas de reactivos usados

Siga las instrucciones que aparecen a continuación para vaciar las botellas de reactivos utilizados en *cada* experimento de secuenciación. La botella grande debe estar colocada.

! Este conjunto de reactivos contiene sustancias químicas que pueden ser peligrosas. Evite su inhalación, su ingestión y el contacto con la piel o los ojos, puesto que pueden provocar lesiones. La ventilación debe ser adecuada para la manipulación de materiales peligrosos en los reactivos. Utilice un equipo de protección, incluidos gafas, guantes y batas de laboratorio adecuados para el riesgo de exposición. Manipule los reactivos usados como residuos químicos y deséchelos de conformidad con las normativas y leyes regionales, nacionales y locales aplicables. Para obtener más información sobre seguridad, salud y medioambiente, consulte la SDS en support.illumina.com/sds.html.

1. Retire y vacíe la botella pequeña de reactivos utilizados como se indica a continuación.
 - a. Levante la palanca y retire la botella pequeña de reactivos utilizados del hueco. Sujete la botella por los lados.
 - b. Retire la tapa roscada del soporte correspondiente situado en la parte delantera de la botella.
 - c. Selle la abertura de la botella con la tapa para evitar que se derrame.
 - d. Mantenga el contenido apartado del contenido de la otra botella y deséchelo de conformidad con las normativas aplicables de su región.
 - e. Vuelva a colocar la botella destapada en el hueco y baje la palanca. Guarde la tapa en el soporte destinado a tal efecto.
2. Retire y vacíe la botella grande de reactivos utilizados como se indica a continuación.
 - a. Con la ayuda del mango superior, retire la botella grande de reactivos utilizados del lado izquierdo del cajón de tampón.
 - b. Retire la tapa roscada del soporte correspondiente situado en la parte delantera de la botella.
 - c. Selle la abertura de la botella con la tapa para evitar que se derrame.
 - d. Deseche el contenido de conformidad con las normativas pertinentes para su región. Sujete los mangos durante el vaciado.
 - e. Vuelva a colocar la botella destapada en el cajón de tampón. Guarde la tapa en el soporte destinado a tal efecto.

Figura 16 Devolución de la botella vacía



3. Utilice un nuevo par de guantes sin talco.
4. Cierre el cajón de tampón y, después, cierre las puertas del compartimento de líquidos.

! Si no vacía las botellas de reactivos utilizados puede interrumpir el experimento y producirse un desbordamiento, lo que dañaría el instrumento y constituiría un riesgo para la seguridad.

Preparación de la celda de flujo y la plataforma

1. Extraiga un nuevo paquete de celda de flujo de su almacenamiento a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.
2. Deje el paquete de la celda de flujo sellado a temperatura ambiente durante 10-15 minutos. Utilice la celda de flujo en un plazo de 12 horas desde su extracción del embalaje.
3. Coloque la plataforma de la celda de flujo sobre una superficie plana.
4. Inspeccione la plataforma y asegúrese de que no contiene partículas.

Descongelación de los reactivos ExAmp

1. Saque un tubo de cada reactivo DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 y DPX3, que están almacenados a una temperatura de entre -25 °C y -15 °C.
2. Descongele a temperatura ambiente durante diez minutos.
3. Déjela reposar en hielo.

i Si tiene que volver a congelar los reactivos ExAmp sin abrir, hágalo inmediatamente después de descongelarlos. Los reactivos ExAmp pueden volver a congelarse solo una vez. Los reactivos remanentes no se pueden congelar ni combinar.

Compruebe la presión de vacío de la celda de flujo

Compruebe el vacío de la celda de flujo de la siguiente manera.

1. En el menú principal, seleccione **Tools** (Herramientas).
2. Seleccione **Flow Cell Vacuum** (Vacío de celda de flujo).
3. Seleccione el/los lado(s) correspondiente(s) en los que se cargarán las celdas de flujo (Lado A, Lado B o ambos).
4. Seleccione **Open** (Abrir).

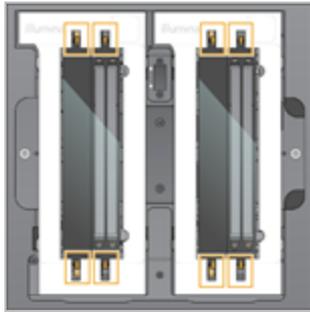
i | El estado de presión de vacío muestra **Fail** (Fallo) en ambos lados A y B cuando se abre por primera vez la herramienta de vacío de la celda de flujo. Esto es normal cuando no hay una celda de flujo o cuando se carga una celda de flujo antes de la herramienta de vacío de la celda de flujo.

5. Retire un nuevo paquete de celdas de flujo a una temperatura de almacenamiento entre 2 °C y 8 °C y descongele a temperatura ambiente durante 10-15 minutos.
6. Extraiga la celda de flujo del embalaje del modo indicado a continuación.
 - a. Póngase un par de guantes nuevos sin polvo para evitar contaminar la superficie de vidrio de la celda de flujo.
 - b. Con el paquete en una superficie plana, abra el envase metálico tirando de la lengüeta de la esquina.
 - c. Quite el retenedor de plástico transparente que cubre la celda de flujo.
 - d. Extraiga la celda de flujo del embalaje. Sujete la celda de flujo por los lados sin tocar el vidrio ni las juntas de la parte inferior.
 - e. Si hay partículas visibles en alguna de las superficies de vidrio, límpiela con un paño sin pelusa humedecido en alcohol y séquela con una toallita de laboratorio sin pelusa.
 - f. Deseche el embalaje de manera adecuada.

i | Es normal que la celda de flujo presente algunos arañazos u otros defectos superficiales y no es previsible que estos afecten a la calidad y cantidad de los datos. Illumina recomienda utilizar estas celdas de flujo siguiendo el procedimiento normal.

7. Alinee la celda de flujo con respecto a las cuatro abrazaderas levantadas y colóquela en la platina de la celda de flujo.

Figura 17 Celdas de flujo cargadas alineadas sobre las abrazaderas



8. Seleccione **Close** (Cerrar).

La puerta de la celda de flujo se cierra, se comprueban la presión de vacío y RFID, y en la pantalla aparecen el descriptor de la celda de flujo, el ID de la celda de flujo y el estado de presión de vacío de la celda de flujo.

9. Si el estado de presión de vacío de la celda de flujo aparece como **Pass** (Superado), seleccione **Open** (Abrir) para abrir la puerta de la celda de flujo y continúe con [Cargue la celda de flujo en la plataforma, en la página 49](#).

Si el estado de presión de vacío de la celda de flujo aparece como **Fail** (Fallo):

- a. Seleccione **Open** (Abrir) para abrir la puerta de la celda de flujo.
- b. Retire la celda de flujo de la platina. Sujete la celda de flujo por los lados sin tocar el vidrio ni las juntas de la parte inferior.
- c. Inspeccione que tanto la celda de flujo como la platina de la celda de flujo estén libres de partículas. Si es necesario, limpie la superficie correspondiente con un paño sin pelusa humedecido en alcohol y séquela con una toallita de laboratorio con poca pelusa..
- d. Vuelva a cargar la celda de flujo alineando esta con respecto a las cuatro abrazaderas levantadas y colóquela en la platina de la celda de flujo.
- e. Seleccione **Close** (Cerrar) para cerrar la puerta de la celda de flujo.
- f. Si la presión de vacío de la celda de flujo sigue fallando, póngase en contacto con el servicio técnico de Illumina.

Agrupación, desnaturalización y carga de bibliotecas para la secuenciación

La concentración de carga puede variar en función de los métodos de preparación, cuantificación y normalización de genotecas. Para obtener instrucciones, consulte [Generador de protocolos de desnaturalización y dilución](#). Cuando la biblioteca agrupada esté lista, continúe con [Cargue la celda de flujo en la plataforma, en la página 49](#).

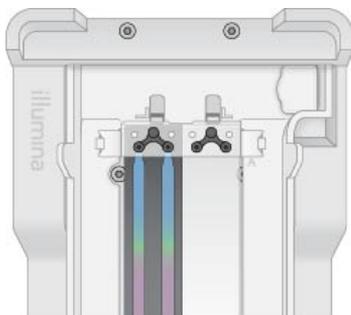
Cargue la celda de flujo en la plataforma

1. Extraiga la celda de flujo del embalaje. Sujete la celda de flujo por los lados sin tocar el vidrio ni las juntas de la parte inferior.
2. Si hay partículas visibles en alguna de las superficies de vidrio, límpiela con un paño sin pelusa humedecido en alcohol y séquela con una toallita de laboratorio sin pelusa.
3. Deseche el embalaje de manera adecuada.

i | Es normal que la celda de flujo presente algunos arañazos u otros defectos superficiales y no es previsible que estos afecten a la calidad y cantidad de los datos. Illumina recomienda utilizar estas celdas de flujo siguiendo el procedimiento normal.

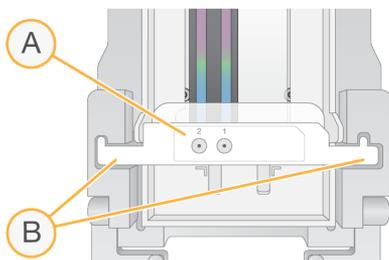
4. Voltee la celda de flujo de modo que la superficie superior quede *hacia abajo*.
5. Deslice el extremo de salida de la celda de flujo debajo del soporte y colóquelo en la plataforma. Consulte las secciones [Celda de flujo, en la página 16](#) y [Plataforma de la celda de flujo de NovaSeq Xp, en la página 20](#).

Figura 18 Colocación de la celda de flujo



6. Con los pocillos hacia arriba, cargue el distribuidor de NovaSeq Xp sobre el extremo de entrada de la celda de flujo. Asegúrese de que los brazos del distribuidor de NovaSeq Xp encajan bien en las ranuras de la plataforma.

Figura 19 Colocación del distribuidor de NovaSeq Xp



- A. Pocillos del distribuidor de NovaSeq Xp hacia arriba
- B. Brazos del distribuidor de NovaSeq Xp colocados en las ranuras de la plataforma

7. Cierre la abrazadera para fijar la celda de flujo y el distribuidor de NovaSeq Xp y sellar las juntas.

8. Deseche el distribuidor de NovaSeq Xp después de cargar los grupos de bibliotecas en la celda de flujo.
El distribuidor de NovaSeq Xp es de un solo uso.

Preparación de la mezcla maestra de ExAmp

Al preparar la mezcla maestra de ExAmp, utilice un tubo de microcentrifugado capaz de albergar, al menos, el doble de volumen requerido:

- Para la celda de flujo de 2 carriles, utilice un tubo de 0,5 ml o 1,7 ml.
- Para la celda de flujo de cuatro carriles, utilice un tubo de 1,7 ml.

Las causas más comunes de la variación en los resultados cuando se mezclan los reactivos ExAmp manualmente son la entrega imprecisa de volúmenes y una mezcla insuficiente. No mezcle menos de lo normal.

i | Los consumibles DPX1 y DPX2 podrían aparecer identificados como JPX1 y JPX2, respectivamente. Todos ellos son compatibles con los kits de reactivos de la versión 1.0 o 1.5.

1. Voltee o agite brevemente los reactivos DPX1/JPX1 y DPX2/JPX2 en un vórtice para mezclarlos.
2. Agite brevemente para mezclar también DPX3.

Los reactivos ExAmp podrían estar separados en el almacenamiento. Son viscosos, en especial DPX2/JPX2 y DPX3. DPX3 no se mezcla fácilmente cuando se voltea debido a su alta viscosidad.

3. Centrifugue brevemente DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 y DPX3.
4. Combine los siguientes volúmenes en un tubo de microcentrifugado apropiado en el orden especificado.

Orden de adición	Reactivo*	Volumen para celda de flujo de dos carriles (SP/S1/S2) (µl)	Volumen para celda de flujo de 4 carriles (S4) (µl)
1	DPX1/JPX1	126	315
2	DPX2/JPX2	18	45
3	DPX3	66	165

* Las tapas de los tubos de reactivo DPX/JPX podrían estar clasificadas por colores (rojo, amarillo y azul para DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 y DPX3, respectivamente). Asegúrese de que se mantengan los códigos de color cuando se sustituyan las tapas de los tubos.

Estos volúmenes proporcionan un resultado de mezcla maestra ExAmp de 210 µl para los modos SP, S1 o S2, o de 525 µl para el modo S4. Estos volúmenes son suficientes para el modo aplicable. Se incluye un volumen mayor para representar los errores de pipeteo al cargar las bibliotecas en la celda de flujo.

5. Pipetee y dispense lentamente para evitar la formación de burbujas y asegurarse de que el volumen íntegro se expulsa desde la punta.
6. Agite con un vórtice entre 20 y 30 segundos o hasta que esté bien mezclado.

i | La mezcla maestra de ExAmp es estable para agitarla en un vórtice.

La mezcla podría parecer turbia, lo cual es normal.

7. Centrifugue a $280 \times g$, como máximo, hasta 1 minuto.
8. **Para lograr un mejor rendimiento de la secuenciación, prosiga de inmediato con el siguiente paso. Si fuera necesario, el almacenamiento ideal de la mezcla maestra es de hasta 1 hora en hielo. Si la almacena a temperatura ambiente, utilícela en un plazo máximo de 30 minutos.**

Carga de bibliotecas en la celda de flujo

Para obtener los mejores resultados, haga lo siguiente:

- Mantenga la celda de flujo cargada a temperatura ambiente. No la refrigere ni la ponga en hielo.
 - Una incubación prolongada podría reducir el porcentaje de grupos que superan el filtro (% de superación de filtro).
 - Inicie el experimento dentro de los 30 minutos siguientes a la carga de los grupos de bibliotecas en la celda de flujo.
 - El uso inmediato de la mezcla de ExAmp y de bibliotecas ofrece mejores resultados.
1. Añada la mezcla maestra de ExAmp a cada grupo de bibliotecas desnaturalizadas como se indica a continuación y, después, agite con el vórtice entre 20 y 30 segundos para mezclarla. Si utiliza gradillas de tubos, pipetee para mezclar hasta que la mezcla sea homogénea.

Modo	Agrupación de bibliotecas desnaturalizadas (μl)	Mezcla maestra de ExAmp (μl)	Volumen resultante (μl)
SP/S1	27	63	90
S2	33	77	110
S4	45	105	150

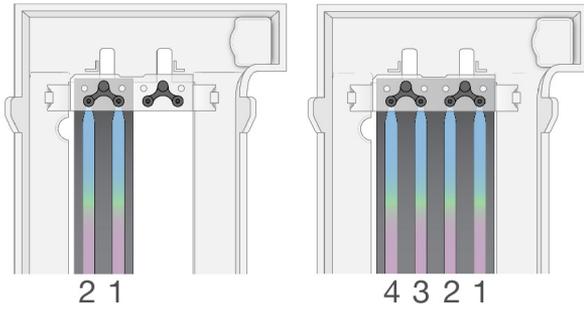
2. Centrifugue a $280 \times g$, como máximo, hasta 1 minuto.
3. Con una pipeta de $200 \mu\text{l}$, añada el volumen apropiado de mezcla de ExAmp o de bibliotecas a cada NovaSeq Xp pocillo del distribuidor.
 - Para evitar que se formen burbujas, cargue las muestras lentamente.
 - Asegúrese de añadir la mezcla de grupo de bibliotecas al pocillo que se corresponde con el carril indicado.
 - Al pipetear, evite el contacto con el filtro en la parte inferior del pocillo.
 - No es necesario esperar a que el carril se llene por completo antes de añadir la mezcla a los pocillos restantes del distribuidor.

Modo	Mezcla de bibliotecas/ExAmp por pocillo (μl)
SP/S1	80

Modo	Mezcla de bibliotecas/ExAmp por pocillo (µl)
S2	95
S4	130

Los pocillos numerados del distribuidor NovaSeq Xp coinciden con el número del carril de la celda de flujo. Cuando la celda de flujo está volteada, se invierte la numeración de los carriles.

Figura 20 Numeración de carriles invertida



- Después de añadir la mezcla de ExAmp o de bibliotecas a todos los pocillos del distribuidor, espere 2 minutos aproximadamente para que la mezcla llegue al extremo opuesto de cada carril. Es normal que se forme una pequeña burbuja de aire en el extremo de salida. Un pequeño volumen de mezcla puede permanecer en los pocillos del distribuidor después de que se llene el carril.

! No incline la celda de flujo cuando trate de determinar si los carriles están llenos o tienen burbujas de aire. Si lo hace, la mezcla de ExAmp o de bibliotecas puede filtrarse desde la celda de flujo. Si un carril no se llena por completo, no intente corregirlo. La cantidad de datos obtenidos del carril parcialmente lleno podría verse reducida. No trate de recuperar la muestra de la celda de flujo.

i No incline la celda de flujo cuando la transporte.

Preparación de cartuchos de SBS y de grupos

- Inspeccione la parte inferior de cada cartucho para asegurarse de que los depósitos no tengan hielo, lo que indica que los reactivos están descongelados.
- Voltee cada cartucho 10 veces para mezclar los reactivos.
- Golpee suavemente el fondo de cada cartucho en la mesa para reducir las burbujas de aire.

Preparación de cebadores personalizados

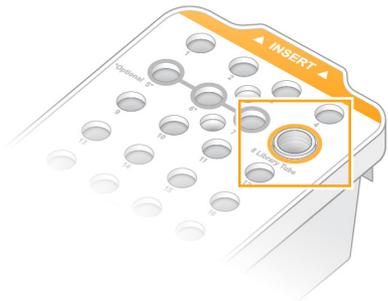
Si su biblioteca requiere cebadores personalizados, prepárelos siguiendo las instrucciones de *Guía de cebadores personalizados NovaSeq Series* (n.º de documento 100000022266).

Carga del tubo de bibliotecas vacío

1. Destape el tubo de bibliotecas suministrado con el Kit de reactivos NovaSeq 6000.
2. Inserte el tubo de bibliotecas vacío y destapado en la posición **Library Tube** (Tubo de bibliotecas) (la posición n.º 8) del cartucho de grupos.

El tubo de bibliotecas vacío debe estar presente durante la adquisición de imágenes de RFID y la mezcla de reactivos integrada. El código de barras del tubo de bibliotecas no se valida conforme al código de barras especificado en el archivo del LIMS. El RFID se valida para confirmar que no se haya utilizado el tubo.

Figura 21 Tubo de bibliotecas destapado en la posición n.º 8



Secuenciación

Configuración de un experimento de secuenciación

Illustrina recomienda mantener la sesión iniciada mientras NVCS se esté ejecutando y haya un experimento de secuenciación en curso.

1. Retire cualquier elemento de la superficie del instrumento.
Mantenga la superficie libre durante el experimento de secuenciación y evite apoyarse en el instrumento. Cualquier presión sobre la puerta de la celda de flujo puede hacer que se abra, lo que detendría el experimento. Los experimentos detenidos no se pueden reanudar.

i | Se admite el inicio escalonado de experimentos nuevos. La hora de inicio escalonado indica cuándo se puede iniciar un experimento escalonado. Si desea más información, consulte [Inicio escalonado de experimentos, en la página 64](#).

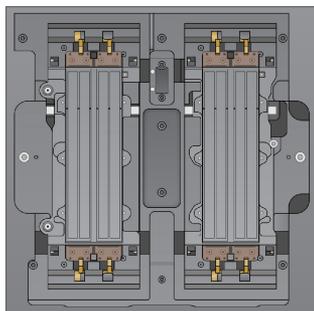
2. En la pantalla Home (Inicio), seleccione **Sequence** (Secuenciar) y, después, elija una sola celda de flujo o una celda de flujo doble:
 - **A+B**: Configura un experimento con una celda de flujo doble.
 - **A**: Configura una sola celda de flujo en el lado A.
 - **B**: Configura una sola celda de flujo en el lado B.

El software inicia la serie de pantallas de configuración del experimento, empezando por la de carga.
3. Seleccione **OK** (Aceptar) para aceptar la advertencia y abrir la puerta de la celda de flujo.

Carga de la celda de flujo en el instrumento

1. Si está presente, retire la celda de flujo del experimento anterior.
2. Si hay partículas visibles en la platina de la celda de flujo, con un paño humedecido en alcohol, límpiela entera, incluidas la interfaz de fluídica y la superficie de vidrio del objetivo de alineación óptica. Séquela mediante una toallita sin pelusa.

Figura 22 Platina de la celda de flujo

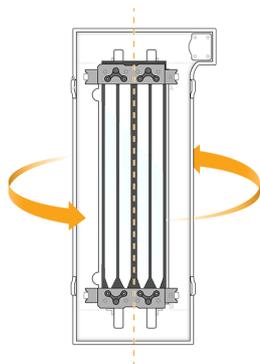


3. **[Flujo de trabajo estándar]** Extraiga la celda de flujo del embalaje como se explica a continuación.
 - a. Póngase un par de guantes nuevos sin polvo para evitar contaminar la superficie de vidrio de la celda de flujo.
 - b. Con el paquete en una superficie plana, abra el envase metálico tirando de la lengüeta de la esquina.
 - c. Quite el retenedor de plástico transparente que cubre la celda de flujo.
 - d. Extraiga la celda de flujo del embalaje. Sujete la celda de flujo por los lados sin tocar el vidrio ni las juntas de la parte inferior.
 - e. Si hay partículas visibles en alguna de las superficies de vidrio, límpiela con un paño sin pelusa humedecido en alcohol y séquela con una toallita de laboratorio sin pelusa.
 - f. Deseche el embalaje de manera adecuada.

i | Es normal que la celda de flujo presente algunos arañazos u otros defectos superficiales y no es previsible que estos afecten a la calidad y cantidad de los datos. Illumina recomienda utilizar estas celdas de flujo siguiendo el procedimiento normal.

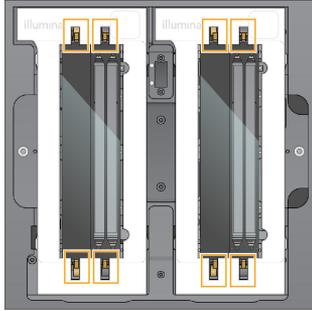
4. **[Flujo de trabajo de NovaSeq Xp]** Descargue la celda de flujo de la plataforma como se explica a continuación.
 - a. Abra la abrazadera que fija la celda de flujo y el distribuidor.
 - b. Sin dejar que el líquido caiga sobre la celda de flujo, quite y deseche con cuidado el distribuidor.
 - c. Si cae líquido sobre la celda de flujo, límpiela con un paño sin pelusa humedecido en alcohol y séquela con una toallita de laboratorio sin pelusa.
 - d. Agarre la celda de flujo por ambos lados para extraerla de la plataforma. Mantenga la celda de flujo nivelada.
 - e. Si quedan restos de material residual en las juntas, seque las cuatro juntas de la celda de flujo con una toallita sin pelusa. No toque las juntas.
 - f. Voltee la celda de flujo en torno al eje longitudinal de forma que la superficie superior quede hacia arriba.

Figura 23 Volteo de la celda de flujo en torno al eje longitudinal



- g. Antes de devolver la plataforma a su almacenamiento, inspecciónela y asegúrese de que no tiene restos de partículas.
5. Alinee la celda de flujo con respecto a las cuatro abrazaderas levantadas y colóquela en la platina de la celda de flujo.

Figura 24 Celdas de flujo cargadas alineadas sobre las abrazaderas



6. Seleccione **Close Flow Cell Door** (Cerrar puerta de la celda de flujo). La puerta de la celda de flujo se cierra, se comprueban los sensores y el RFID, y aparece en la pantalla el ID de la celda de flujo.

Carga de los cartuchos de SBS y de grupos

i | En el flujo de trabajo de NovaSeq Xp, antes de cargar el cartucho de grupos, asegúrese de que el tubo de bibliotecas vacío y destapado esté cargado en el cartucho.

1. Abra las puertas del compartimento de líquidos y, a continuación, la puerta del refrigerador de reactivos.
2. Retire los cartuchos de SBS y de grupos utilizados. Los cierres metálicos de los cartuchos utilizados están perforados.
3. Deseche el contenido no usado de conformidad con las normativas aplicables. Para desechar de forma segura la posición n.º 30 del cartucho de grupos, consulte [Desacople de la posición n.º 30, en la página 65](#).

4. Cargue los cartuchos preparados en el cajón del refrigerador de reactivos de modo que las etiquetas **Insert** (Insertar) estén orientadas hacia la parte trasera del instrumento:
 - Coloque el cartucho de SBS (etiqueta gris) en la posición izquierda.
 - Coloque el cartucho de grupos (etiqueta naranja) que contiene el tubo de bibliotecas destapado en la posición derecha.

Figura 25 Cartuchos de reactivos cargados

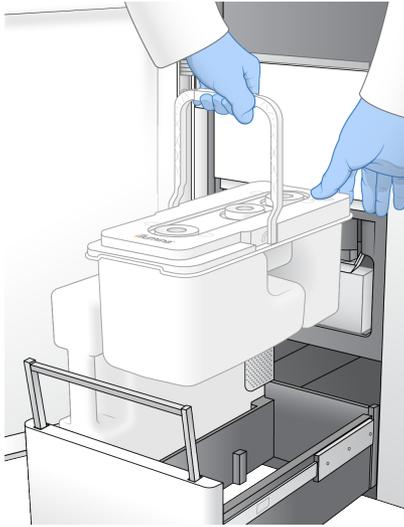


5. Deslice el cajón para introducirlo en el refrigerador de reactivos y, seguidamente, cierre la puerta de este.
Se comprueban los sensores y los RFID. Los ID del tubo de bibliotecas y los dos cartuchos aparecerán en la pantalla.

Carga del cartucho de tampón

1. Tire del mango de metal para abrir el cajón de tampón.
2. Retire el cartucho de tampón utilizado del lado derecho del cajón de tampón.
El cartucho de tampón utilizado tiene cierres metálicos perforados.
3. Coloque un nuevo cartucho de tampón en el cajón de forma que la etiqueta **Illumina** esté orientada a la parte delantera del cajón. Alinee el cartucho con las guías levantadas en la base y los lados del cajón.
Una vez que el cartucho de tampón esté cargado y debidamente fijado, puede cerrarse el cajón.

Figura 26 Carga del cartucho de tampón



4. Si las dos botellas de reactivos utilizados se han vaciado, seleccione la casilla de verificación que sirve para dejar constancia de que ambas botellas de reactivos utilizados están vacías.
 - ! Si no vacía las botellas de reactivos utilizados puede interrumpir el experimento y producirse un desbordamiento, lo que dañaría el instrumento y constituiría un riesgo para la seguridad.
5. Seleccione el botón disponible:
 - **Log In** (Iniciar sesión): abre la pantalla Log In (Iniciar sesión) para iniciar sesión en su cuenta en la nube. Para BaseSpace Sequence Hub, continúe a [Iniciar sesión en BaseSpace Sequence Hub, en la página 58](#). Para Illumina Connected Analytics, continúe a [Iniciar sesión en Illumina Connected Analytics, en la página 59](#).
 - **Run Setup** (Configuración del experimento): omite BaseSpace Sequence Hub y abre la pantalla Run Setup (Configuración del experimento) para introducir los parámetros del experimento. Vaya a [Introducción de los parámetros del experimento, en la página 59](#).

El botón disponible dependerá de si el sistema está configurado para BaseSpace Sequence Hub.

Iniciar sesión en BaseSpace Sequence Hub

Cuando abra NVCS, el grupo de trabajo predeterminado de BaseSpace Sequence Hub se selecciona como grupo de trabajo. Si no ha especificado ningún grupo de trabajo predeterminado, se seleccionará el personal.

1. **[Opcional]** Actualice la configuración de BaseSpace Sequence Hub del experimento actual.
 - Para deshabilitar BaseSpace Sequence Hub, desmarque la casilla de verificación **BaseSpace Sequence Hub**, y, a continuación, seleccione **Run Setup** (Configuración del experimento) para continuar sin iniciar sesión.

- Para enviar los datos del experimento a BaseSpace Sequence Hub para la supervisión remota y el análisis de los datos, seleccione **Run Monitoring and Storage** (Almacenamiento y supervisión de experimentos). Para esta opción hace falta una hoja de muestras.
 - Para enviar archivos InterOp, runinfo.xml y runParameters.xml a BaseSpace Sequence Hub para supervisar el experimento de manera remota, seleccione **Run Monitoring Only** (Solo supervisión de experimentos).
2. Introduzca el nombre de usuario y la contraseña de BaseSpace Sequence Hub, y, a continuación, seleccione **Sign In** (Iniciar sesión).
 3. Si se le solicita, seleccione un grupo de trabajo en el que cargar los datos del experimento y, a continuación, seleccione **Run Setup** (Configuración del experimento).
Se le solicitará solo si pertenece a varios grupos de trabajo.

Iniciar sesión en Illumina Connected Analytics

1. **[Opcional]** Actualice la siguiente configuración de Illumina Connected Analytics (ICA) para el experimento actual:
 - Para desactivar ICA, desmarque la casilla de verificación Opciones de nube de Illumina y, a continuación, seleccione **Run Setup** (Configuración del experimento) para continuar sin iniciar sesión.
 - Para enviar los datos del experimento a ICA para la supervisión remota y el análisis de los datos, seleccione **Run Monitoring and Storage** (Almacenamiento y supervisión de experimentos). Para esta opción hace falta una hoja de muestras.
 - Para enviar archivos InterOp, runinfo.xml y runParameters.xml a ICA para supervisar el experimento de manera remota, seleccione **Run Monitoring Only** (Solo supervisión de experimentos).
2. Introduzca el nombre de usuario y la contraseña de ICA, y, a continuación, seleccione **Sign In** (Iniciar sesión).
3. Si se le solicita, seleccione un grupo de trabajo para cargar los datos del experimento, y, a continuación, seleccione **Run Setup** (Configuración del experimento).

Introducción de los parámetros del experimento

1. Si el flujo de trabajo de NovaSeq Xp está activado, seleccione un tipo de flujo de trabajo.
 - Si selecciona **NovaSeq Xp**, asegúrese de que hay cargado un tubo de bibliotecas vacío.
 - Si selecciona **NovaSeq Standard**, asegúrese de que la muestra está cargada en el tubo de bibliotecas.
2. En el campo Run Name (Nombre del experimento), introduzca un nombre de su preferencia para identificar el experimento actual.
El nombre de experimento puede contener caracteres alfanuméricos, guiones y guiones bajos.

- Introduzca el número de ciclos de cada lectura y la longitud del índice del experimento de secuenciación.

No existe ningún número máximo de ciclos de índices, pero la suma de los ciclos de lectura y los ciclos de índices debe ser inferior al número de ciclos del kit.

- Read 1** (Lectura 1): introduzca un valor de hasta 151 ciclos para los kits de 300 ciclos de la versión 1.0, o de hasta 251 para los kits de 500 ciclos de la versión 1.0. Introduzca un valor de hasta 159 ciclos para los kits de 300 ciclos de la versión 1.5, o de hasta 259 para los kits de 500 ciclos de la versión 1.5.
- Index 1** (Índice 1): introduzca el número de ciclos para el cebador del índice 1 (i7).
- Index 2** (Índice 2): Introduzca el número de ciclos para el cebador del índice 2 (i5).
- Read 2** (Lectura 2): introduzca un valor de hasta 151 ciclos para los kits de 300 ciclos de la versión 1.0, o de hasta 251 para los kits de 500 ciclos de la versión 1.0. Introduzca un valor de hasta 159 ciclos para los kits de 300 ciclos de la versión 1.5, o de hasta 259 para los kits de 500 ciclos de la versión 1.5. Este valor suele ser el mismo que el valor de la lectura 1.

i | El número de ciclos analizados en las lecturas 1 y 2 es un ciclo menos que el valor introducido. Por ejemplo, para llevar a cabo un experimento "paired-end" de 150 ciclos (experimento de 2×150 pb), introduzca el valor de 151 ciclos para la lectura 1 y la lectura 2.

En los kits de la versión 1.0, la suma de los cuatro valores introducidos puede superar el número indicado de ciclos para cada kit de reactivos seleccionado en hasta 23 ciclos para experimentos "paired-end" y en 30 ciclos para experimentos de lectura individual.

En los kits de la versión 1.5, la suma de los cuatro valores introducidos puede superar el número indicado de ciclos para cada kit de reactivos seleccionado en hasta 38 ciclos tanto para los experimentos de lectura individual como para los "paired-end".

El kit S4 de 35 ciclos contiene 72 ciclos de secuenciación en total. La suma de los cuatro valores puede superar el número indicado con 37 ciclos como máximo. Los valores de lectura predeterminados se pueden editar y el número de ciclos se puede distribuir entre las 4 lecturas, p. ej.: 36, 10, 10, 0.

- Amplíe la opción **Advanced Options** (Opciones avanzadas) para aplicar la configuración del experimento actual.

Estos ajustes son opcionales a menos que se especifique lo contrario.

- v1.0 Imprimadores personalizados:** seleccione la casilla de verificación **Imprimadores personalizados**, y, a continuación, seleccione las casillas de verificación correspondientes. Las Preparación de muestras de ADN sin PCR de Illumina, tagmentación bibliotecas requieren un cebador de secuenciación de lectura 1 (VP10) personalizado si se utilizan kits v1.0. Consulte *Guía de cebadores personalizados NovaSeq Series (n.º de documento 1000000022266)* para obtener más detalles.
 - Read 1** (Lectura 1): utilice un cebador personalizado para la lectura 1.

- **Read 2** (Lectura 2): utilice un cebador personalizado para la lectura 2.
- **Custom Index** (Índice personalizado): utilice un cebador personalizado para el índice 1.
- **v1.5 Custom Primers** (Cebadores personalizados): seleccione la casilla de verificación **Custom Primers** (Cebadores personalizados), y, a continuación, seleccione las casillas de verificación correspondientes. Las bibliotecas de Preparación de muestras de ADN sin PCR de Illumina, tagmentación no requieren un cebador personalizado si se utilizan kits v1.5. Consulte *Guía de cebadores personalizados NovaSeq Series* (n.º de documento 1000000022266) para obtener más detalles.
 - **Read 1** (Lectura 1): utilice un cebador personalizado para la lectura 1.
 - **Read 2** (Lectura 2): utilice un cebador personalizado para la lectura 2.
 - **Custom Index** (Índice personalizado): utilice un cebador personalizado para las lecturas de Índice 1 e Índice 2.
- **Output Folder** (Carpeta de resultados): seleccione **Browse** (Examinar) para cambiar la carpeta de resultados para el experimento actual. Cuando el experimento no está conectado a BaseSpace Sequence Hub o Illumina Connected Analytics, es necesaria una carpeta de resultados para almacenarlos.
- **Samplesheet** (Hoja de muestras): seleccione **Browse** (Examinar) para cargar una hoja de muestras, que es necesaria cuando se utiliza BaseSpace Sequence Hub o Illumina Connected Analytics para la supervisión y el almacenamiento de experimentos, u otro archivo CSV. El archivo CSV se copia en la carpeta de resultados y no afecta a los parámetros del experimento. Compruebe que la hoja de muestras cargada esté en el formato adecuado (en la dirección del adaptador de la lectura del índice 2) en función de los flujos de trabajo de la versión 1.0 y 1.5, que siguen estrategias distintas. El flujo de trabajo de la cadena de avance se lleva a cabo con kit de reactivos de la versión 1.0. El flujo de trabajo del complemento inverso se lleva a cabo con kit de reactivos de la versión 1.5.
- **Custom Recipe** (Fórmula personalizada): seleccione **Custom Recipe** (Fórmula personalizada), y, a continuación, **Browse** (Examinar) para utilizar una fórmula personalizada en formato XML para este experimento. Las fórmulas personalizadas para v1.0 no serán compatibles con v1.5. Para obtener más información, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.



No se pueden modificar los pasos de generación de grupos en una fórmula personalizada.

5. Seleccione **Review** (Revisar).

El software confirma que los parámetros especificados son adecuados para la fórmula.

Confirmación de los parámetros del experimento

1. Confirme los parámetros del experimento que se muestran en la pantalla Review (Revisión).
2. **[Opcional]** Seleccione **Back** (Atrás) para volver a la pantalla Run Setup (Configuración del experimento) y edite los parámetros del experimento.

3. Seleccione **Start Run** (Iniciar experimento).

Las comprobaciones previas al experimento se inician automáticamente.

Revisión de las comprobaciones previas al experimento

1. Espere unos 5 minutos a que finalicen las comprobaciones previas al experimento.

El experimento comienza de manera automática después de finalizar correctamente las comprobaciones.



Para evitar un sobrellenado del disco duro, no copie ningún dato en C después de iniciar el experimento.

2. Si las comprobaciones previas al experimento fallan debido a un error del sensor, como que la celda de flujo no se detecta, debe salir y reiniciar el flujo de trabajo.

3. Para otros fallos de comprobaciones previas al experimento, seleccione **Retry** (Reintentar) para reiniciar una comprobación con error o **Retry All** (Reintentar todo) para reiniciar todas las comprobaciones.

Hay que solucionar los errores antes de poder iniciar el experimento. Consulte [Errores de la comprobación previa al experimento, en la página 76](#) para obtener más información sobre la solución de problemas.

4. Seleccione el icono de **Error** para ver los detalles del error.

5. Si falla la comprobación de alineación, solucione los errores de la siguiente manera.

a. Seleccione **Reload** (Volver a cargar) y, a continuación, **OK** (Aceptar) para regresar a la pantalla Load (Cargar).

b. Retire cualquier elemento de encima del instrumento y, después, seleccione **OK** (Aceptar). Se abre la puerta de la celda de flujo.

c. Vuelva a cargar la celda de flujo y, después, seleccione **Run Setup** (Configuración del experimento).

d. Navegue por las pantallas para volver a leer cada RFID y regrese a la pantalla Pre-Run Checks (Comprobaciones previas al experimento).

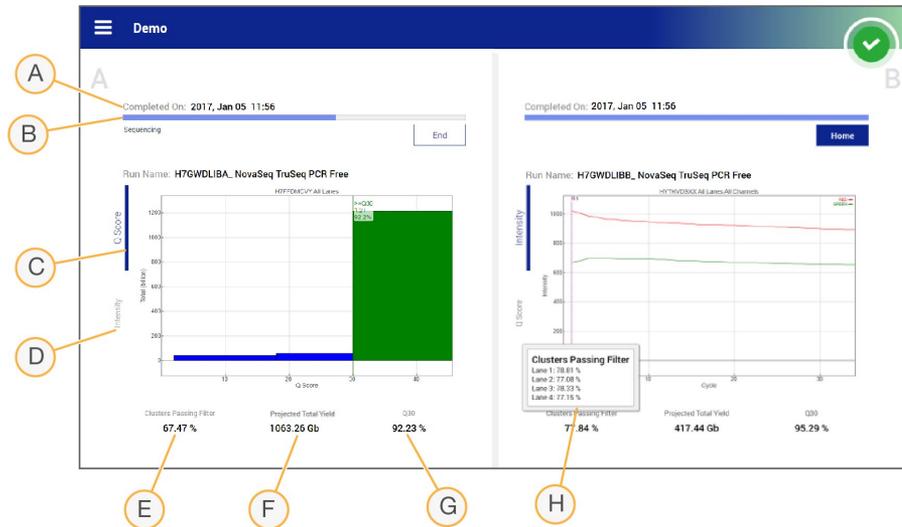
e. Vuelva a realizar la comprobación.

Supervisión del progreso del experimento

- Supervise el progreso del experimento, las intensidades y las puntuaciones de calidad mientras los datos de medición aparecen en la pantalla.

Para obtener más información sobre los datos de medición del experimento, consulte [Real-Time Analysis](#), en la página 81.

Figura 27 Progreso y parámetros del experimento de secuenciación



- A. **Time to completion** (Tiempo hasta la finalización): muestra la fecha y la hora (aaaa-mm-dd hh:mm) de finalización del experimento.
- B. **Run progress** (Progreso del experimento): el paso actual del experimento. El tamaño de la barra de progreso no es proporcional a la velocidad del experimento de cada paso.
- C. **Q-scores** (Puntuaciones Q): la distribución de las puntuaciones de calidad (puntuaciones Q).
- D. **Intensity** (Intensidad): el valor de las intensidades de grupos del percentil 90 para cada placa. Los colores de los diagramas indican los canales verde y rojo.
- E. **Clusters passing filter (%)** (Grupos que superan el filtro [%]): el porcentaje de grupos que superan el filtro.
- F. **Projected Total Yield (Gb)** (Rendimiento total proyectado [Gb]): el rendimiento proyectado para el experimento de celda de flujo. Si se seleccionan los datos de medición por carril (H), los números mostrados representan el rendimiento actual por carril y se actualizarán en cada ciclo durante el experimento.
- G. **Q30**: el porcentaje de llamada de bases para el experimento que tiene una puntuación Q \geq 30.
- H. **Per lane breakdown** (Desglose por carril): al seleccionar los valores de los elementos E, F y G se mostrará un desglose de datos por carril para cada uno de esos campos.

i Si se inicia un apagado o un reinicio mientras se está ejecutando NVCS, el usuario debe confirmar esta acción (apagado o reinicio) para que pueda llevarse a cabo.

Criterios de medición del experimento

El software muestra los datos de medición que se hayan generado durante el experimento. Estos datos aparecen en forma de diagramas, gráficos y tablas según los datos generados por RTA3 y escritos en los archivos InterOp.

La generación de grupos dura aproximadamente 2 horas, y a continuación comienza la secuenciación con el ciclo 1. Los datos se actualizan conforme avanza la secuenciación. Los grupos que superan el filtro, el rendimiento y las puntuaciones de calidad están disponibles después del ciclo 26. Antes del ciclo 26, no se rellena ningún valor y estos se designan como no aplicables.

Estado de procesamiento

En la pantalla Process Management (Administración de procesos) figura el estado de cada experimento. En el menú principal, seleccione **Process Management** (Administración de procesos).

Para cada nombre del experimento, la pantalla Process Management (Administración de procesos) enumera el estado de los siguientes procesos:

- **Run Status** (Estado del experimento): se basa en el procesamiento de archivos CBCL.
- **Network** (Red): se basa en la transferencia de archivos mediante el uso del Universal Copy Service.
- **BaseSpace**: se basa en la carga de archivos a BaseSpace Sequence Hub, si procede.

Cuando finaliza un proceso, aparece una marca de verificación de color verde. Para obtener más información, consulte [Gestión del proceso, en la página 11](#).

Inicio escalonado de experimentos

Puede configurar e iniciar un experimento en el lado inactivo del instrumento mientras haya un experimento en curso en el otro lado, lo que se denomina "inicio escalonado". Los experimentos escalonados se configuran a horas concretas durante un experimento, como se indica mediante los siguientes mensajes del temporizador de cuenta atrás de inicio.

- **Run Start: Available** (Inicio de experimento: Disponible): el inicio escalonado está disponible. Se muestran la fecha y la hora en que el inicio escalonado dejará de estar disponible. Seleccione **Sequence** (Secuenciar) para iniciar un nuevo experimento escalonado después de que haya terminado el ciclo actual.
- **Run Start: Unavailable** (Inicio de experimento: No disponible): el inicio escalonado no está disponible. Se muestran la fecha y la hora en que el inicio escalonado pasará a estar disponible en el otro lado del instrumento.
- **Waiting...** (Esperando...): si se intenta un nuevo experimento cuando el inicio escalonado no está disponible, el estado cambia a Esperando y la fecha y la hora muestran la hora aproximada en la que el instrumento estará preparado para el nuevo experimento. El instrumento continúa con la configuración del experimento cuando el inicio escalonado esté disponible.

Cuando configure el experimento nuevo, el software automáticamente pondrá en pausa y reanudará el experimento en la celda de flujo adyacente según sea necesario. El sistema se coloca en estado seguro cuando se pone en pausa.

Procedimiento

1. En la pantalla de inicio, seleccione **Sequence** (Secuenciar) y, a continuación, seleccione **A** o **B**. El lado seleccionado debe ser el lado actualmente inactivo.
2. Espere a que se pause el experimento en la celda de flujo adyacente. Para cancelar el nuevo experimento y evitar ponerlo en pausa, seleccione **Cancel** (Cancelar).
Si el experimento adyacente está realizando una generación de grupos, una resíntesis “paired-end”, una adquisición de imágenes o un lavado, el software finalizará el paso actual sin ponerlo en pausa.
3. Cuando el experimento adyacente se haya puesto en pausa y se abra la puerta de la celda de flujo, configure el nuevo experimento.
Una vez se inicia el nuevo experimento, el experimento en pausa se reanuda automáticamente.

Eliminación del experimento

Una vez que la transferencia de datos haya finalizado, puede eliminar el experimento actual de Process Management (Administración de procesos) para liberar espacio para los siguientes experimentos. Al eliminar el experimento se libera espacio en el CE y la unidad C sin necesidad de eliminar archivos de mantenimiento del sistema ni de que ello afecte a la copia de BaseSpace Sequence Hub ni a la red. Los experimentos que se encuentran en la fase de secuenciación no se pueden eliminar.

1. En el menú principal, seleccione **Process Management** (Administración de procesos).
2. **[Opcional]** Asegúrese de que cada proceso del experimento muestra una marca de verificación de color verde, lo que indica que la transferencia de datos ha finalizado.
Aunque la transferencia de datos a una red o a BaseSpace Sequence Hub no haya finalizado, podrá eliminar el experimento, pero se perderán todos los datos del experimento.
3. Seleccione **Delete Run** (Eliminar experimento) y, después, **Yes** (Sí) para confirmar.
4. Seleccione **Done** (Hecho).

Desacople de la posición n.º 30

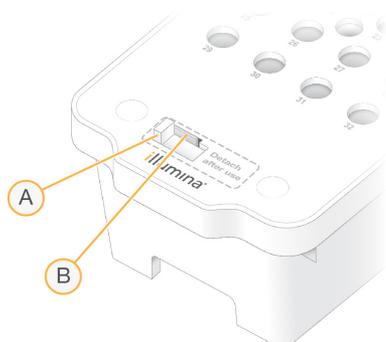
El depósito en la posición n.º 30 del cartucho de grupos contiene formamida. Se retira del cartucho de grupos utilizado y se desecha por separado.

! Este conjunto de reactivos contiene sustancias químicas que pueden ser peligrosas. Evite su inhalación, su ingestión y el contacto con la piel o los ojos, puesto que pueden provocar lesiones. La ventilación debe ser adecuada para la manipulación de materiales peligrosos en los reactivos. Utilice un equipo de protección, incluidos gafas, guantes y batas de laboratorio adecuados para el riesgo de exposición. Manipule los reactivos usados como residuos químicos y deséchelos de conformidad con las normativas y leyes regionales, nacionales y locales aplicables. Para obtener más información sobre seguridad, salud y medioambiente, consulte la SDS en support.illumina.com/sds.html.

1. Con unos guantes puestos, empuje la lengüeta de plástico con la etiqueta **Detach after use** (Desacoplar después del uso) a la derecha.
2. Coloque una mano o una superficie sólida debajo del depósito y presione la lengüeta de plástico transparente hacia la etiqueta de Illumina para liberar el depósito de debajo del cartucho de grupos.

i Evite apilar grupos de cartuchos cuando los vaya a almacenar, ya que se podría salir el depósito por accidente.

Figura 28 Posición n.º 30 extraíble



- A. Lengüeta de plástico blanca para desacople
- B. Lengüeta de plástico transparente para liberación

3. Deseche el depósito de conformidad con las normativas aplicables.

Lavado automático posterior al experimento

Al término de la secuenciación, el software inicia un lavado automático posterior al experimento que dura aproximadamente 80 minutos. El sistema dispensa hipoclorito sódico (NaOCl) al 0,24 % desde la posición n.º 17 y lo diluye hasta el 0,12 %. El NaOCl al 0,12 % se dispensa a las posiciones de las bibliotecas y los reactivos ExAmp a través de la celda de flujo y, a continuación, a las botellas de reactivos utilizados. El lavado enjuaga la cadena molde del sistema para evitar la contaminación cruzada.

Cuando el lavado finaliza, el sistema se coloca en un lugar seguro y el botón de inicio se activa. Deje los consumibles en su sitio hasta el siguiente experimento. Después del lavado, los dispensadores permanecen en los cartuchos de SBS y de grupos con el fin de evitar que entre aire en el sistema. Los dispensadores del cartucho de tampones se elevan para que las botellas de reactivos utilizados puedan vaciarse.

i | Si se produce un error durante un lavado automático posterior al experimento y este se queda por terminar, hay que realizar un lavado de mantenimiento.

Mantenimiento

Mantenimiento preventivo

Illustrina recomienda programar un servicio de mantenimiento preventivo cada año. Si no dispone de un contrato de servicios, póngase en contacto con el comercial de su región o con el servicio de asistencia técnica de Illustrina para acordar un servicio de mantenimiento preventivo facturable.

Realización de un lavado de mantenimiento

El software solicita un lavado de mantenimiento en los siguientes casos:

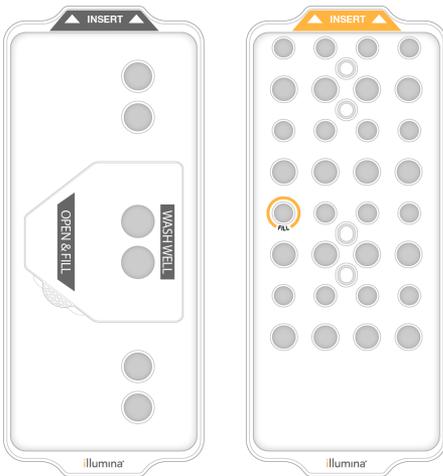
- Cuando no se ha efectuado ningún experimento de cuatro carriles con lavado posterior al experimento en los últimos 14 días.
- Cuando no se ha efectuado ningún lavado de mantenimiento en los últimos 14 días.
- Cuando un lavado posterior al experimento falla o se queda por terminar.

El lavado de mantenimiento irriga el sistema con diluciones de Tween 20 y NaOCl suministradas por el usuario. Las diluciones se dispensan de los cartuchos de lavado a la celda de flujo, a las botellas de reactivos usados y a cada depósito de cartuchos con el fin de lavar todos los dispensadores. La duración del lavado es de, aproximadamente, 80 minutos.

Para el lavado de mantenimiento hace falta un cartucho de tampón utilizado, el cartucho de lavado de SBS, el cartucho de lavado de grupos y la celda de flujo de lavado de 4 carriles suministrados con el instrumento (o una celda de flujo de cuatro carriles utilizada). Al igual que con los cartuchos de reactivos, los cartuchos de lavado están codificados por colores para evitar los errores de carga. El cartucho de lavado de SBS tiene un pocillo central para la dilución de Tween 20. La dilución de NaOCl se añade a un depósito en el cartucho de lavado de grupos.

 Si no vacía las botellas de reactivos utilizados puede interrumpir el lavado y producirse un desbordamiento, lo que dañaría el instrumento y constituiría un riesgo para la seguridad.

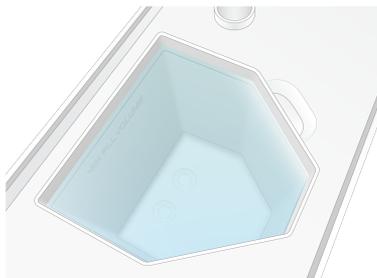
Figura 29 Cartucho de lavado de SBS (izquierda) y cartucho de lavado de grupos (derecha)



Preparación de la solución de lavado

1. Añada 400 ml de agua de laboratorio a una botella de centrifugado de 500 ml.
2. Añada 0,2 ml de Tween 20 al 100 % para obtener una solución de lavado de, al menos, 400 ml de Tween 20 al 0,05 %.
Con una dilución recién preparada de Tween 20 se limita la entrada de contaminantes en el sistema de fluidica.
3. Invierta para mezclar.
4. Retire la tapa del pocillo central del cartucho de lavado de SBS.
5. Añada solución de lavado al pocillo central. Llene hasta MIN FULL VOLUME (VOLUMEN DE LLENADO MÍNIMO), la cual indica el volumen mínimo necesario.
Los otros depósitos permanecerán vacíos.

Figura 30 Pocillo central lleno hasta la línea de volumen de llenado mínimo

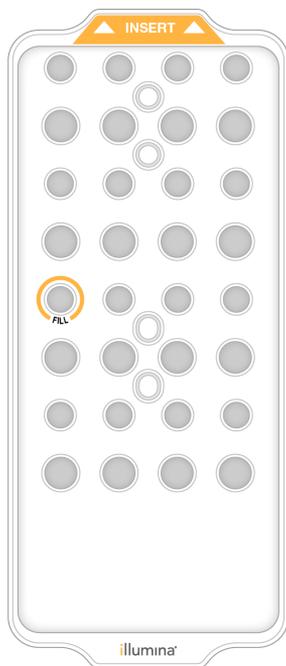


6. Combine los siguientes volúmenes en un tubo de centrifugado de 30 ml para preparar 20 ml de NaOCl para reactivos al 0,25 %:
 - NaOCl para reactivos al 5 % (1 ml)
 - Agua desionizada (19 ml)

- ! Utilice solo NaOCl para reactivos. Absténgase de usar productos desinfectantes de uso general, ya que pueden contener compuestos con amoníaco, los cuales podrían dar lugar a experimentos en los que las lecturas superen el filtro en un porcentaje reducido.

- Invierta para mezclar.
- Añada 5 ml del cartucho de NaOCl al 0,25 % de grado reactivo.
La ubicación se marca como llena y tiene un círculo naranja a su alrededor. Todos los demás depósitos permanecerán vacíos.

Figura 31 Posición para NaOCl al 0,25 %



Carga de la celda de flujo de lavado

- Retire cualquier elemento de la superficie del instrumento.
Mantenga la superficie libre durante el lavado de mantenimiento y evite apoyarse en el instrumento. Cualquier presión sobre la puerta de la celda de flujo puede hacer que se abra, lo que detendría el lavado.

2. En la pantalla Home (Inicio), seleccione **Wash** (Lavado) y, a continuación, elija el lado que desee lavar:

- **A+B**: lavar ambos lados simultáneamente.
- **A**: lavar solo el lado A.
- **B**: lavar solo el lado B.

El software inicia la serie de pantallas de lavado.

i | Un lavado de mantenimiento en una cara solo se puede iniciar cuando la otra está inactiva o realizando ciclos de lectura de SBS. La hora de inicio escalonado de NVCS indica la disponibilidad para iniciar un nuevo experimento o lavado. Consulte [Inicio escalonado de experimentos, en la página 64](#).

3. Seleccione **OK** (Aceptar) para aceptar la advertencia y abrir la puerta de la celda de flujo.
4. Si todavía no hay una presente, cargue una celda de flujo de lavado o una celda de flujo usada de 4 carriles.
5. Seleccione **Close Flow Cell Door** (Cerrar puerta de la celda de flujo).
La puerta se cierra, se comprueban los sensores y el RFID, y aparece en la pantalla el ID de la celda de flujo.

Carga de los cartuchos de lavado

Los cartuchos de lavado son necesarios para realizar un lavado de mantenimiento. No utilice los cartuchos de SBS ni los cartuchos de grupos utilizados.

1. Abra las puertas del compartimento de líquidos y, a continuación, la puerta del refrigerador de reactivos.
2. Retire los cartuchos de SBS y de reactivos de grupos utilizados. Deseche el contenido no usado de conformidad con las normativas aplicables en su región.
Para desechar de forma segura la posición n.º 30 del cartucho de grupos, consulte [Desacople de la posición n.º 30, en la página 65](#).
3. Cargue los cartuchos de lavado en el cajón del refrigerador de reactivos de modo que las etiquetas **Insert** (Insertar) estén orientadas hacia la parte trasera del instrumento:
 - Coloque el cartucho de SBS (etiqueta gris) en la posición izquierda.
 - Coloque el cartucho de grupos (etiqueta naranja) en la posición derecha.
4. Deslice el cajón para introducirlo en el refrigerador de reactivos y, seguidamente, cierre la puerta de este.
Se comprueban los sensores, y se escanea y se muestra en pantalla el RFID de cada cartucho.
5. Abra el cajón de tampón.
6. Si todavía no hay ninguno, cargue un cartucho de tampón utilizados.

Vaciado de botellas de reactivos usados

Siga las instrucciones que aparecen a continuación para vaciar las botellas de reactivos utilizados con *cada* lavado de mantenimiento. Incluso si su sistema está configurado para enviar reactivos utilizados de manera externa, la botella pequeña recoge los reactivos utilizados y la botella grande debe encontrarse en su posición.

 Este conjunto de reactivos contiene sustancias químicas que pueden ser peligrosas. Evite su inhalación, su ingestión y el contacto con la piel o los ojos, puesto que pueden provocar lesiones. La ventilación debe ser adecuada para la manipulación de materiales peligrosos en los reactivos. Utilice un equipo de protección, incluidos gafas, guantes y batas de laboratorio adecuados para el riesgo de exposición. Manipule los reactivos usados como residuos químicos y deséchelos de conformidad con las normativas y leyes regionales, nacionales y locales aplicables. Para obtener más información sobre seguridad, salud y medioambiente, consulte la SDS en support.illumina.com/sds.html.

1. Extraiga la botella pequeña de reactivos utilizados y deseche el contenido de conformidad con las normas aplicables en su región. Mantenga el contenido apartado del contenido de la otra botella.
2. Vuelva a colocar el contenedor pequeño de reactivos utilizados en el hueco.
3. Extraiga la botella grande de reactivos utilizados y deseche el contenido de conformidad con las normas aplicables.
4. Vuelva a colocar la botella grande de reactivos utilizados en el cajón de tampón.
5. Utilice un nuevo par de guantes sin talco.
6. Cierre el cajón de tampón y, después, cierre las puertas del compartimento de líquidos.
Se comprueban los sensores y los RFID. Aparece en la pantalla el ID de cada componente de lavado.

Inicio del lavado

1. Seleccione la casilla de verificación que indica que ambas botellas de reactivos utilizados están vacías y, a continuación, seleccione **Start Wash** (Iniciar lavado).
El lavado empieza y se muestra la hora estimada de finalización de este.

 Si no vacía las botellas de reactivos utilizados puede interrumpir el lavado y producirse un desbordamiento, lo que dañaría el instrumento y constituiría un riesgo para la seguridad.

2. Una vez finalizado el lavado, seleccione **Home** (Inicio).
3. Deje los consumibles en su sitio hasta el siguiente experimento.
Los dispensadores permanecen en los cartuchos de SBS y de grupos con el fin de evitar que entre aire en el sistema. Los dispensadores del cartucho de tampón se elevan para que las botellas de reactivos utilizados puedan vaciarse.

Actualizaciones de software

Hay disponibles actualizaciones de software para NVCS v1.4 o versiones posteriores. Puede descargar e instalar actualizaciones de software de NVCS. La búsqueda automática de actualizaciones de software está habilitada de forma predeterminada. Puede habilitar o deshabilitar las actualizaciones automáticas en Settings (Configuración).

i | El NovaSeq 6000 debe estar conectado a Internet para poder buscar actualizaciones de software y descargarlas.

La búsqueda automática de actualizaciones se realiza cada 24 horas. Cuando haya una actualización disponible aparece una notificación en el menú principal. Todos los usuarios pueden ver la notificación de actualización, pero solo puede descargar e instalar las actualizaciones una persona con rol de administrador.

En el flujo de trabajo de NovaSeq Xp, asegúrese de que la versión de NVCS cumpla los requisitos mínimos de software enumerados en la siguiente tabla antes de comenzar la preparación de las muestras o los consumibles.

Tabla 12 Requisitos mínimos de software

Celda de flujo	Versión mínima del software del kit de reactivos: v1.0	Versión mínima del software del kit de reactivos: v1.5
SP	1.6	1.7
S1	1.3.1	1.7
S2	Todas	1.7
S4	1.2.0	1.7

i | No es posible actualizar el software si se está efectuando un experimento de secuenciación, un lavado, la configuración de un experimento o una transferencia de archivos a la carpeta de resultados o a BaseSpace Sequence Hub. Si hay un flujo de trabajo de NovaSeq Xp en curso, espere para actualizar el software a que las bibliotecas se hayan cargado en la celda de flujo y a que la secuenciación haya terminado.

Para buscar manualmente las actualizaciones o para descargar e instalar una actualización, realice los siguientes pasos:

1. En el menú principal, seleccione **Software Update** (Actualización de software). Aparecerá la pantalla Software Update (Actualización de software), que muestra las notas de la versión de la actualización disponible. Si no está habilitada la búsqueda automática de actualizaciones de software, puede buscarlas manualmente o habilitar la búsqueda automática.
2. Para descargar la actualización e instalarla, marque la casilla para confirmar que entiende que la descarga y la instalación tardarán unos 30 minutos.

3. Seleccione **Download and Install** (Descargar e instalar).

Una vez finalizada la descarga, NVCS se cierra y se inicia el instalador. Siga las instrucciones del instalador para efectuar la instalación.

Si se producen errores durante la descarga o la instalación, póngase en contacto con la asistencia técnica de Illumina.

Solución de problemas

Recursos de solución de problemas

Para cuestiones técnicas, visite la [página de asistencia de NovaSeq 6000 Sequencing System en el sitio web de Illumina](#). Las páginas de asistencia proporcionan acceso a la documentación, las descargas y las preguntas frecuentes. Para acceder a los boletines de asistencia, inicie sesión en su cuenta de MyIllumina.

Si tiene problemas con el rendimiento o la calidad de los experimentos, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina. Para facilitar la solución de problemas, le recomendamos compartir un enlace al resumen del experimento en BaseSpace Sequence Hub con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Archivos de solución de problemas

Archivo clave	Carpeta	Descripción
Archivo de información del experimento (RunInfo.xml)	Carpeta raíz	Contiene los ajustes del experimento: <ul style="list-style-type: none"> • Número de ciclos del experimento • Número de lecturas del experimento • Si la lectura es indexada • Número de sectores y placas de la celda de flujo
Archivo de parámetros del experimento (RunParameters.xml)	Carpeta raíz	Contiene el nombre del experimento e información sobre los parámetros y componentes del experimento, incluida la siguiente información de RFID: números de serie, números de lote, fechas de caducidad y números de catálogo.
Archivos InterOp (*.bin)	InterOp	Archivos binarios de informes usados por Sequencing Analysis Viewer. Los archivos InterOp se actualizan durante el experimento.
Archivos de registro	Logs	Los archivos de registro describen cada paso llevado a cabo por el instrumento en cada ciclo—incluido el tipo de reactivo utilizado— y enumeran las versiones de software y firmware utilizadas con el experimento. El archivo llamado <code>[NombreDelInstrumento]_CurrentHardware.csv</code> muestra los números de serie de los componentes del instrumento.

Errores de la comprobación previa al experimento

Si se produce un error durante las comprobaciones previas al experimento, utilice las siguientes acciones para resolverlo. Si va a configurar un experimento con una celda de flujo doble y un lado falla, puede cancelar el lado fallido y continuar con el lado que superó la comprobación.

Cuando una comprobación previa al experimento falla, los RFID de la celda de flujo, los reactivos y los tampones no se bloquean, de modo que es posible utilizar los consumibles para un experimento posterior. Cuando se inicia el experimento, los dispensadores perforan los cierres metálicos de los cartuchos de reactivos y se bloquean todos los RFID.

Comprobación del sistema	Motivo del error	Acción recomendada
Carga de la celda de flujo	La celda de flujo no se acopla o el sistema no puede leer la etiqueta RFID.	Inspeccione y limpie la celda de flujo y la platina de la celda de flujo, y, a continuación, vuelva a cargar la celda de flujo.
Sensores	Una puerta del compartimento está abierta, un consumible no está bien cargado o un sensor, como mínimo, no funciona.	Seleccione Retry (Reintentar) y siga las indicaciones que aparecen en pantalla para resolver el error.
Espacio en disco	El espacio en disco es insuficiente, porque la ubicación especificada para la carpeta de resultados está llena.	Utilice la pantalla Process Management (Administración de procesos) para borrar espacio de disco de la ubicación de carpeta de resultados especificada.
Conectividad del sistema	La conexión a RTA3, el sistema de fluídica u otra conexión se ha interrumpido.	Seleccione Retry (Reintentar) y siga las indicaciones que aparecen en pantalla para resolver el error.
Alineación	La posición de la celda de flujo impide la adquisición de imágenes.	Siga las indicaciones que aparecen en pantalla para volver a cargar la celda de flujo.

Bandeja de pérdidas

Hay una bandeja de pérdidas en la base del instrumento para recoger las fugas de reactivos o de refrigerante, así como para recoger el desbordamiento de las botellas de reactivos utilizados. En condiciones normales, la bandeja de fugas está seca. Las pérdidas indican un problema con el instrumento y el desbordamiento se produce cuando las botellas de reactivos utilizados no se vacían con regularidad.

Durante la comprobación previa al experimento, los sensores detectan si la bandeja de pérdidas contiene algún líquido:

- si la bandeja de pérdidas contiene líquido, pero no está llena, el experimento puede continuar, aunque debe ponerse en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.
- Si la bandeja de pérdidas está llena, el experimento no puede continuar y debe ponerse en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

! Vacíe las botellas de reactivos utilizados antes de *cada experimento*. Los experimentos se detienen si cualquiera de las botellas de reactivos utilizados está llena. El desbordamiento de cualquiera de las botellas de reactivos utilizados produce daños en el instrumento, hace que un representante de Illumina tenga que ir al centro y constituye un riesgo para la seguridad.

Solución de problemas de gestión de procesos

En la siguiente tabla se proporcionan opciones de solución de problemas para el icono N/A en la pantalla Process Management (Administración de procesos):

- El icono N/A se muestra en la columna BaseSpace, y el experimento se configura para cargarse en BaseSpace Sequence Hub.
- El icono N/A se muestra en la columna Network (Red) y el experimento se configura para cargarse en una carpeta de resultados de la red.

Estado del experimento	Acción de solución de problemas
Hay un experimento en curso	Cierre la pantalla Process Management (Administración de procesos), espere aproximadamente cinco minutos y vuelva a abrir la pantalla.
No hay un experimento en curso	Apague y vuelva a encender el instrumento y vuelva a abrir la pantalla Process Management (Administración de procesos).

Si el icono N/A sigue mostrándose después de haber realizado estas acciones de solución de problemas, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Error en experimento antes de la generación de grupos

Si el software no completa el experimento antes de que se inicie la generación de grupos, puede guardar los cartuchos de reactivos, el tubo de bibliotecas (incluida la muestra), y, si se reutiliza de inmediato, la celda de flujo, para un nuevo experimento. Cuando se inicia la generación de grupos, los dispensadores perforan los cierres metálicos y los reactivos se transfieren al tubo de bibliotecas y a la celda de flujo, de modo que los consumibles y las bibliotecas no se pueden usar para otro experimento.

Tiene dos opciones para configurar un nuevo experimento con los cartuchos de reactivos, el tubo de bibliotecas y la celda de flujo guardados del experimento fallido:

- **Configurar un nuevo experimento inmediatamente:** configure el nuevo experimento en un plazo de 4 horas desde el error del experimento. Los cartuchos de reactivos, el tubo de bibliotecas y la celda de flujo permanecen cargados.

i | Para lograr unos resultados óptimos en un flujo de trabajo de NovaSeq Xp, inicie el nuevo experimento lo antes posible.

- **Configurar un nuevo experimento más tarde:** configure el nuevo experimento en un plazo de tres semanas desde el error del experimento. Los cartuchos de reactivos y el tubo de bibliotecas se descargan del instrumento y se almacenan. Los consumibles guardados deberán estar etiquetados con la fecha y almacenados en las condiciones iniciales.

i | La celda de flujo no se puede reutilizar y debe desecharse. Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina para obtener una celda de flujo de repuesto.

Configuración de un experimento nuevo de manera inmediata

Si un experimento fallido utilizó el flujo de trabajo de NovaSeq Xp, inicie el nuevo experimento lo antes posible para obtener unos resultados óptimos.

1. Si el experimento falla y el otro lado del instrumento está inactivo, reinicie el instrumento. De lo contrario, seleccione **Home** (Inicio).
2. Configure un experimento nuevo.
3. Deje la celda de flujo actual en su sitio.
4. Abra y cierre la puerta del refrigerador de reactivos y el cajón de tampón para hacer que el NVCS vuelva a leer los RFID del cartucho de reactivo.
Los cartuchos, el tubo de bibliotecas y la celda de flujo pueden permanecer en el instrumento hasta 4 horas después del fallo en el experimento.
5. En caso necesario, vacíe las botellas de reactivo utilizadas y vuelva a colocarlas en el instrumento.
6. Continúe con la configuración del experimento.

Configuración de un experimento nuevo más adelante

1. Si se produce un fallo en el experimento, seleccione **Home** (Inicio).
2. Configure un nuevo experimento o un lavado de mantenimiento para liberar a los consumibles del instrumento.
3. Cuando se le solicite, elimine y almacene los siguientes consumibles:
 - Tape el tubo de bibliotecas y almacénelo a una temperatura comprendida entre -25 °C y -15 °C durante un periodo de tres semanas como máximo.

- Vuelva a almacenar los cartuchos de SBS y de grupos a una temperatura de entre $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
 - Vuelva a almacenar el cartucho de tampón a temperatura ambiente y protegido de la luz. Si no se han perforado, es posible reutilizar los cartuchos en un nuevo experimento.
4. Seleccione **End** (Finalizar) para cancelar el experimento o el lavado de mantenimiento y, a continuación, seleccione **Yes** (Sí) para confirmar el comando. También puede dejar que el lavado de mantenimiento termine en lugar de cancelarlo.

Finalización de un experimento

La finalización de un experimento en el sistema NovaSeq 6000 es *definitiva*. El software no puede reanudar el experimento ni guardar los datos de secuenciación, y tampoco se pueden reutilizar los consumibles.

1. Seleccione **End** (Finalizar) y, después, seleccione **Yes** (Sí) para confirmar el comando. Si el experimento finalizó después de la Lectura 1, el software iniciará el lavado posterior al experimento automático.
2. Si se le solicita, seleccione entre las siguientes opciones de lavado:
 - **End Run Without Wash** (Finalizar experimento sin lavar): se finaliza el experimento y se inicia un lavado de mantenimiento.
 - **End Run and Wash** (Finalizar experimento y lavar): se finaliza el experimento y se lleva a cabo un lavado automático posterior al experimento.
 - **Cancel** (Cancelar): se continúa con el experimento actual.Si se finaliza el experimento entre la finalización de la generación de grupos y la finalización de la Lectura 1, el software muestra las opciones de lavado. En caso contrario, el software iniciará el lavado posterior al experimento automático.
3. Si ha seleccionado End Run Without Wash (Finalizar experimento sin lavar), siga las indicaciones del software para configurar un lavado de mantenimiento.

Apagado del instrumento

Al apagar el instrumento se desconecta de forma segura el software y los sistemas, así como la fuente de alimentación del instrumento. La barra de estado pasa de color verde a blanco, lo que indica que el apagado está en curso.

En circunstancias normales, el apagado del instrumento es innecesario.

Cada vez que se produzca un fallo de software, es necesario apagar por completo el instrumento y volver a encenderlo.

Si se inicia un apagado o un reinicio mientras se está ejecutando NVCS, el usuario debe confirmar esta acción (apagado o reinicio) para que pueda llevarse a cabo.

1. En el menú principal, seleccione **Shutdown Instrument** (Apagar instrumento).

2. Después de que la pantalla se quede en blanco, ponga el interruptor de alimentación de la parte posterior del instrumento en la posición de apagado.
3. Espere al menos 60 segundos antes de volver a encender el instrumento.
 - ! No cambie la posición del instrumento. Un movimiento inadecuado podría afectar a la alineación óptica y poner en riesgo la integridad de los datos. Para obtener ayuda con el cambio de posición, póngase en contacto con el representante de Illumina.

Real-Time Analysis

Descripción general de Real-Time Analysis

El NovaSeq 6000 Sequencing System ejecuta RTA3, una implementación del software Real-Time Analysis, en el motor informático (CE) del instrumento. RTA3 extrae las intensidades de las imágenes recibidas de la cámara, realiza la llamada de bases, asigna una puntuación de calidad a las llamadas de bases, se alinea con PhiX y notifica datos en archivos InterOp en Sequencing Analysis Viewer.

Para optimizar el tiempo de procesamiento, RTA3 almacena información en memoria. Si se interrumpe RTA3, el procesamiento no se reanuda y se pierden los datos del experimento que se estén procesando en la memoria.

Entradas de RTA3

RTA3 requiere las imágenes de las placas contenidas en la memoria del sistema local para su procesamiento. RTA3 recibe información del experimento y comandos del NVCS.

Salidas de RTA3

Las imágenes de cada canal de color se transfieren en memoria a RTA3 como placas. A partir de estas imágenes, RTA3 produce un conjunto de archivos de filtros y archivos de llamada de bases con puntuación de calidad. Todos los demás resultados admiten archivos de resultados.

Tipo de archivo	Descripción
Archivos de llamada de bases	Cada placa que se analiza se incluye en un archivo de llamadas de bases concatenadas (*.cbcl). Las placas del mismo carril y superficie se agregan a un archivo *.cbcl para cada carril y superficie.
Archivos de filtros	Cada placa produce un archivo de filtros (*.filter) que especifica si un grupo supera los filtros.
Archivos de ubicación de grupos	Los archivos de ubicación de grupos (*.locs) contienen las coordenadas X e Y para cada grupo en una placa. Se genera un archivo de ubicación de grupos para cada experimento.

Los archivos de resultados se usan para los análisis sucesivos en BaseSpace Sequence Hub. De manera alternativa, use el software de conversión bcl2fastq para la conversión de FASTQ y soluciones de análisis de otros proveedores. Para los archivos de NovaSeq es necesario el software de conversión bcl2fastq2 v2.19 o versiones posteriores. Para obtener la última versión de bcl2fastq2, visite la [página de descargas de bcl2fastq2](#) en el sitio web de Illumina.

RTA3 ofrece métricas en tiempo real sobre la calidad del experimento almacenados como archivos InterOp, que son archivos binarios de resultados que contienen métricas de placas, ciclos y nivel de lectura. Para ver métricas en tiempo real con Sequencing Analysis Viewer hacen falta archivos InterOp. Para obtener la última versión de Sequencing Analysis Viewer, visite la [página de descargas de Sequencing Analysis Viewer](#) en el sitio web de Illumina.

Gestión de errores

RTA3 crea archivos de registro y los guarda en la carpeta de registros. Los errores se registran en un archivo de texto con formato *.log.

Los archivos de registro siguientes se transfieren a la ubicación de destino de los resultados finales tras completar el procesamiento:

- info_00000.log contiene un resumen de los eventos importantes del experimento.
- error_00000.log enumera los errores que se han producido durante un experimento.
- warning_00000.log enumera las advertencias que se han producido durante un experimento.

Placas de la celda de flujo

Las placas son pequeñas zonas de adquisición de imágenes en la celda de flujo. La cámara toma una imagen de cada sector, que el software divide en placas para el procesamiento de RTA3. El número total de placas depende de la cantidad de imágenes de carriles, sectores y superficies que se adquieran en la celda de flujo.

- Las celdas de flujo SP tienen un total de 312 placas.
- Las celdas de flujo S1 tienen un total de 624 placas.
- Las celdas de flujo S2 tienen un total de 1408 placas.
- Las celdas de flujo S4 tienen un total de 3744 placas.

Tabla 13 Placas de la celda de flujo

Componente de la celda de flujo	SP	S1	S2	S4	Descripción
Carriles	2	2	2	4	Un carril es un canal físico con puertos de entrada y salida.
Superficies	1	2	2	2	Las imágenes de las celdas de flujo S1, S2 y S4 se adquieren en dos superficies: la superior y la inferior. En primer lugar, se adquieren imágenes de la superficie superior de una placa. Se adquieren imágenes solo de la superficie inferior de la celda de flujo SP.

Componente de la celda de flujo	SP	S1	S2	S4	Descripción
Sectores por carril	2	2	4	6	Un sector es una columna del carril de una celda de flujo que la cámara captura como una imagen.
Placas por sector	78	78	88	78	Una placa es una porción de un sector y describe una zona de la celda de flujo cuya imagen se ha adquirido.
Total de placas generadas	312	624	1408	3744	Carriles × superficies × sectores × placas por cada sector equivale al número total de placas.

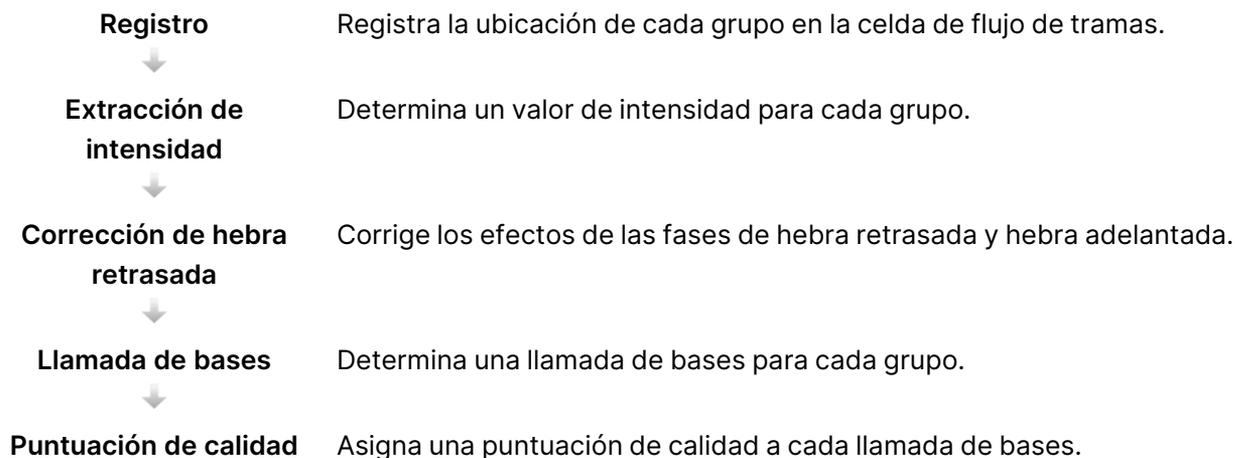
Nomenclatura de placa

El nombre de la placa contiene un número de cinco dígitos que representa la posición de la placa en la celda de flujo. Por ejemplo, el nombre de placa 1_1205 indica la superficie superior del carril 1, el sector 2 y la placa 5.

- El primer dígito es el número de carril:
 - 1 o 2 para una celda de flujo SP, S1 o S2.
 - 1, 2, 3 o 4 para una celda de flujo S4.
- El segundo dígito representa la superficie: 1 para la parte superior o 2 para la inferior.

En el caso de la celda de flujo SP, el segundo dígito es siempre un 2 porque esta celda de flujo solo tiene una superficie inferior.
- El tercer dígito representa el número de sector:
 - 1 o 2 para una celda de flujo SP o S1.
 - 1, 2, 3 o 4 para una celda de flujo S2.
 - 1, 2, 3, 4, 5 o 6 para una celda de flujo S4.
- Los dos últimos dígitos representan el número de placa. La numeración comienza por 01 en el extremo de salida de la celda de flujo hasta 88 o 78 en el extremo de entrada.
 - De 01 a 78 para una celda de flujo SP, S1 o S4.
 - De 01 a 88 para una celda de flujo S2.

Flujo de trabajo de Real-Time Analysis



Registro

El registro alinea una imagen con la matriz hexagonal de nanopocillos en la celda de flujo de tramas. Debido a la disposición ordenada de los nanopocillos, las coordenadas X e Y para cada grupo de una placa están predeterminadas. Las posiciones de los grupos se recopilan en un archivo de ubicación de grupos (s.locs) para cada experimento.

Si se produce un error en el registro de cualquier imagen en un ciclo, no se generará ninguna llamada de bases para esa placa en ese ciclo. Utilice el Sequencing Analysis Viewer para identificar qué imágenes no se han podido registrar.

Extracción de intensidad

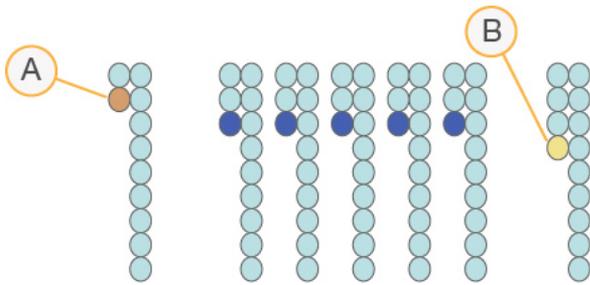
Tras el registro, la extracción de intensidad calcula un valor de intensidad para cada nanopocillo en una imagen determinada. Si el registro falla, no es posible extraer la intensidad para dicha placa.

Corrección de hebra retrasada

Durante la reacción de secuenciación, cada cadena de ADN de un grupo se amplía en una base por cada ciclo. Las hebras retrasadas y las hebras adelantadas se producen cuando una cadena queda fuera de su lugar con respecto al ciclo de incorporación actual.

- La fase de hebra retrasada se produce cuando una base se atrasa.
- La fase de hebra adelantada se produce cuando una base se avanza.

Figura 32 Fases de hebra retrasada y de hebra adelantada



- A. Lectura con una base con fase de hebra retrasada
- B. Lectura con una base con fase de hebra adelantada.

RTA3 corrige los efectos de las fases de hebra retrasada y adelantada, lo que aumenta al máximo la calidad de los datos en cada uno de los ciclos del experimento.

Llamada de bases

La llamada de bases determina una base (A, C, G o T) para cada grupo de una placa determinada en un ciclo concreto. NovaSeq 6000 Sequencing System utiliza secuenciación de dos canales, que necesita solo dos imágenes para codificar los datos de cuatro bases de ADN: una imagen del canal rojo y una imagen del canal verde.

Una ausencia de llamada se identifica como N. Las ausencias de llamadas se producen cuando un grupo no supera el filtro, el registro falla o se desplaza un grupo fuera de la imagen.

Las intensidades de cada grupo se extraen de la imagen roja y de la verde y se comparan una con otra, lo que produce cuatro poblaciones diferenciadas. Cada población se corresponde con una base. El proceso de llamada de bases determina a qué población pertenece cada grupo.

Figura 33 Visualización de intensidades de grupos

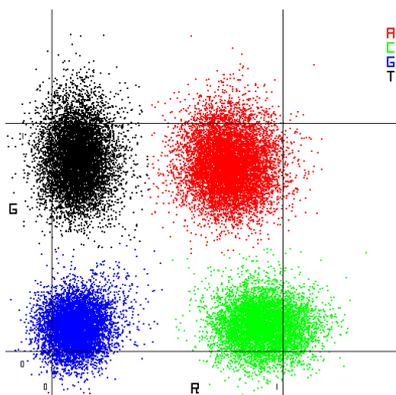


Tabla 14 Llamada de bases en secuenciación de dos canales

Base	Canal rojo	Canal verde	Resultado
A	1 (encendido)	1 (encendido)	Grupos que presentan intensidad en los canales rojo y verde.
C	1 (encendido)	0 (apagado)	Grupos que presentan intensidad solo en el canal rojo.
G	0 (apagado)	0 (apagado)	Grupos que no presentan intensidad en una ubicación de grupos conocida.
T	0 (apagado)	1 (encendido)	Grupos que presentan intensidad solo en el canal verde.

Grupos que superan el filtro

Durante el experimento, RTA3 filtra los datos sin procesar para eliminar las lecturas que no satisfagan el umbral de calidad de los datos. Los grupos que se solapan o de baja calidad se eliminan.

En el caso del análisis de dos canales, RTA3 utiliza un sistema basado en la población para determinar la castidad (medición de pureza de la intensidad) de una llamada de bases. Los grupos superan el filtro (PF) cuando solo una llamada de bases de los primeros 25 ciclos tiene un valor de castidad inferior al umbral fijado. La alineación de PhiX se lleva a cabo en el ciclo 26 en un subconjunto de placas de grupos que superan el filtro. Los grupos que no superan el filtro no se alinean ni se realiza en ellos la llamada de bases.

Puntuaciones de calidad

Una puntuación de calidad (puntuación Q) es una predicción de la probabilidad de obtener una llamada de bases incorrecta. Una puntuación Q superior implica que la llamada de bases tiene una calidad mayor y es más probable que sea correcta. Tras determinar la puntuación Q, los resultados se registran en archivos de llamadas de bases (*.cbcl).

La puntuación Q comunica brevemente pequeñas probabilidades de error. Las puntuaciones de calidad se representan como Q(X), donde X es la puntuación. En la tabla siguiente figura la relación entre una puntuación de calidad y la probabilidad de error.

Puntuación Q, Q(X)	Probabilidad de error
Q40	0,0001 (1 entre 10 000)
Q30	0,001 (1 entre 1000)
Q20	0,01 (1 entre 100)
Q10	0,1 (1 entre 10)

Puntuación de calidad y generación de informes

Para la puntuación de calidad se calcula un conjunto de predictores para cada llamada de bases y, a continuación, se utilizan los valores de los predictores para buscar la puntuación Q en una tabla de calidad. Las tablas de calidad se crean para proporcionar predicciones de calidad con una precisión óptima de experimentos generados mediante una configuración específica de la plataforma de secuenciación y una versión de composición química concretas.

i | La puntuación de calidad se basa en una versión modificada del algoritmo Phred.

RTA3 asigna a cada llamada de bases una de las tres puntuaciones de calidad según el grado de confianza en la llamada de bases. El modelo de elaboración de informes de puntuaciones de calidad (puntuaciones Q) reduce los requisitos de espacio de almacenamiento y ancho de banda sin detrimento de la precisión o el rendimiento.

Si desea más información acerca de la puntuación de calidad, consulte *Puntuaciones de calidad del sistema NovaSeq™ 6000 y software RTA3 (n.º de publicación 770-2017-010)*.

Archivos y carpetas de resultados

Estructura de carpetas de resultados de secuenciación

El NVCS genera el nombre de la carpeta de resultados de forma automática.

 **Config:** parámetros de configuración del experimento.

 **Logs:** archivos de registro que describen los pasos operativos, los análisis del instrumento y los eventos de RTA3.

 **Data**

 **Intensities**

 **BaseCalls**

 **L00[X]:** archivos de llamada de bases (*.cbcl) agregados en un archivo por carril, superficie y ciclo.

 **s.locs:** el archivo de ubicaciones de grupo para el experimento.

 **InterOp:** archivos binarios utilizados por Sequencing Analysis Viewer.

 **Recipe:** archivo de la fórmula específica del experimento.

 **Thumbnail Images:** imágenes en miniatura cada 10 placas.

 **LIMS:** el archivo de configuración del experimento (*.json), si procede.

 RTA3.cfg

 RunInfo.xml

 RunParameters.xml

 RTAComplete.txt

 CopyComplete.txt

 SampleSheet.csv: hoja de muestras u otro archivo adjunto, si procede.

 SequenceComplete.txt

Archivos de resultados de secuenciación

Tipo de archivo	Descripción, ubicación y nombre del archivo
Archivos de llamada de bases	<p>Cada grupo analizado se incluye en un archivo de llamada de bases, agregado en un archivo para cada ciclo, carril y superficie. El archivo agregado contiene la llamada de bases y la puntuación de calidad codificada para cada grupo. Los archivos de llamadas de bases son utilizados por BaseSpace Sequence Hub o bcl2fastq2.</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 L[<i>lane</i>][<i>surface</i>].cbcl, por ejemplo, L001_1.cbcl</p>
Archivos de ubicación de grupos	<p>Para cada célula de flujo, un archivo binario de ubicación de grupos contiene las coordenadas X e Y para los grupos en una placa. Una disposición hexagonal que coincide con la disposición de nanopocillos de la celda de flujo define previamente las coordenadas.</p> <p>Data\Intensities s_[<i>lane</i>].locs</p>
Archivos de filtros	<p>El archivo de filtros especifica si un grupo ha superado los filtros. Estos archivos se generan en el ciclo 26 mediante el uso de 25 ciclos de datos. Para cada placa se genera un archivo de filtros.</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[<i>lane</i>][<i>tile</i>].filter</p>
archivos InterOp	<p>Archivos binarios de informes usados por Sequencing Analysis Viewer. Los archivos InterOp se actualizan durante el experimento.</p> <p>Carpeta <i>InterOp</i></p>
Archivo de información del experimento	<p>Indica el nombre del experimento, el número de ciclos de cada lectura, si la lectura es una lectura del índice, y el número de sectores y placas de la célula de flujo. El archivo de información del experimento se crea al inicio del experimento.</p> <p>[<i>Root folder</i>],RunInfo.xml</p>
Archivos de vistas en miniatura	<p>Si se activa, aparece una imagen en miniatura cada 10 placas en cada canal de color (rojo y verde).</p> <p>Thumbnail_Images\L001\C[X.1]: los archivos se almacenan en una subcarpeta para cada ciclo.</p> <p>s_[<i>carril</i>][<i>placa</i>][<i>canal</i>].jpg: la imagen en miniatura incluye el número de placa.</p>

Seguridad de Windows

Requisitos de las contraseñas

La siguiente tabla identifica las políticas de contraseñas necesarias para el ordenador de control. El software solicita que se cambie la contraseña la primera vez que se inicia sesión.

Tabla 15 Políticas de contraseña predeterminadas

Política	Ajuste de seguridad
Aplicar historial de contraseñas	Se recuerdan cinco contraseñas
Edad máxima de la contraseña	180 días
Edad mínima de la contraseña	0 días
Longitud mínima de la contraseña	10 caracteres
La contraseña debe cumplir los requisitos de complejidad	Desactivado
Guardar las contraseñas con cifrado reversible	Desactivado

Cortafuegos de Windows

El cortafuegos de Windows protege el ordenador de control al filtrar el tráfico entrante a fin de eliminar las posibles amenazas. El cortafuegos está habilitado de forma predeterminada para bloquear todas las conexiones entrantes. Mantenga el cortafuegos habilitado y permita todas las conexiones salientes. Consulte *Guía de preparación del centro para la serie NovaSeq (n.º de documento 1000000019360)* para obtener más información sobre las conexiones de salida.

Kit de herramientas de experiencia mejorada de migración

El Kit de herramientas de experiencia mejorada de migración (EMET, por sus siglas en inglés) evita la explotación de las vulnerabilidades del software; y proporciona la función Certificate Trust (Certificado de confianza), que detecta y detiene ataques que utilizan certificados maliciosos.

Software Restriction Policies

Las directivas de restricción de software (SRP) de Windows utilizan reglas para permitir que se ejecute únicamente el software especificado. En NovaSeq 6000, las reglas SRP se basan en certificados, en nombres y extensiones de archivos, y en directorios.

De manera predeterminada, las SRP se activan para evitar que se ejecute software no deseado en el ordenador de control. Un representante de TI o un administrador del sistema pueden añadir y quitar reglas para personalizar el nivel de seguridad. Si el sistema se añade a un dominio, el objeto de directiva de grupo (GPO) local puede modificar automáticamente las reglas y deshabilitar las SRP.

! Si se desactiva la directiva de restricción de software, se anula la protección que proporciona. Si se cambian las reglas, se anulan las protecciones predeterminadas.

Reglas SRP permitidas

En el NovaSeq 6000 Sequencing System, SRP permite las siguientes reglas de manera predeterminada.

Certificado

DigitalSystems

Illumina, Inc.

NovaSeq

Archivos ejecutables

Portmon.exe

Procmon.exe

Procmon64.exe

Tcpview.exe

Extensiones de archivo

*.bin

*.cbcl

*.cfg

*.config

*.csv

*.dat

*.focus

*.imf1

*.ims

*.jpg

*.json

*.lnk

*.locs

*.log

*.manifest

*.sdf

*.tif

*.txt

*.xml

Directorios

```
%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\*
```

Adición y eliminación de reglas SRP

Añada y elimine reglasSRP para personalizar la seguridad del sistema. Para modificar las reglas hay que desactivar temporalmente las SRP. Para obtener instrucciones sobre cómo añadir y eliminar reglas SRP, consulte [Seguridad y redes](#).

Consideraciones sobre el modo de investigación de NovaSeq 6000Dx

Introducción

El sistema NovaSeq 6000Dx Sequencing System tiene dos modos de funcionamiento separados: el modo de diagnóstico *in vitro* (IVD) y el modo de uso exclusivo en investigación (RUO). En el modo RUO, puede crear un experimento manualmente o elegir un experimento planificado previamente de varias fuentes.

Illumina Run Manager es una función exclusiva del NovaSeq 6000Dx Instrument. Para obtener instrucciones sobre la creación de un experimento planificado en Illumina Run Manager o con el modo IVD, consulte *Documentación de NovaSeq 6000Dx Instrument (documento #200010105)*.

En el modo manual RUO, las instrucciones de esta guía se aplican al NovaSeq 6000Dx Instrument, con las siguientes excepciones:

- Compatibilidad de los consumibles
- Indicadores de modo del instrumento
- Procedimientos de lavado de mantenimiento

Opciones de planificación de experimentos de NovaSeq 6000Dx

Existen varias opciones para planificar un experimento en el NovaSeq 6000Dx Instrument.

- **Manual:** introduzca la información del experimento manualmente. Solo está disponible cuando el instrumento está en modo RUO. Consulte [Configuración de un experimento de secuenciación, en la página 54](#).
- **LIMS:** seleccione un experimento de un servidor LIMS o LIMS basado en archivos. Solo está disponible cuando el instrumento está en modo RUO. Consulte [Modos de configuración del experimento, en la página 29](#).
- **Illumina Run Manager:** planifique un experimento en el DRAGEN Server con Illumina Run Manager. Disponible en modo IVD o RUO. Para obtener más información sobre este método, el DRAGEN Server y el Illumina Run Manager, consulte *Documentación de NovaSeq 6000Dx Instrument (documento #200010105)*.

Compatibilidad de los consumibles de NovaSeq 6000Dx

Para realizar un experimento de secuenciación en el NovaSeq 6000Dx Instrument, es necesario un kit de NovaSeq 6000 o NovaSeq 6000Dx Kit, de un solo uso, un cartucho de tampón y un tubo de biblioteca. Puede utilizar consumibles NovaSeq 6000Dx para un experimento en el modo RUO. Los consumibles de NovaSeq 6000 no se pueden utilizar para un experimento en el modo IVD.

Indicadores de modo de NovaSeq 6000Dx Instrument

El NovaSeq 6000Dx Instrument cuenta con un botón en la pantalla de inicio que se puede utilizar para cambiar entre el modo RUO y el modo IVD. Cuando el NovaSeq 6000Dx Instrument se cambia al modo RUO, utilice los botones de opción para seleccionar el modo planificado o el modo manual.

En la siguiente tabla, se enumeran los indicadores del modo del instrumento en la pantalla de inicio.

Modo	Barra de color
Modo IVD	Gris
Modo RUO	Azul

Recursos y referencias

Las [páginas de asistencia de NovaSeq](#) en el sitio de asistencia de Illumina proporcionan recursos adicionales. Revise siempre las páginas de asistencia para obtener las versiones más recientes.

Historial de revisiones

Documento	Fecha	Descripción del cambio
N.º de material 20023471 N.º de documento 1000000019358 v18	Abril de 2025	Se actualizaron las referencias a la información de las cuentas del sistema operativo. Se ha añadido una guía para que los cartuchos SBS y de grupos se puedan volver a congelar hasta una vez después de la descongelación. Se ha añadido una guía de solución de problemas para errores de fallo de carga de la celda de flujo. Se ha añadido una guía para inspeccionar los cartuchos SBS en busca de grietas al extraerlos del envase.
N.º de material 20023471 N.º de documento 1000000019358 v17	Septiembre de 2022	Se añadieron consideraciones sobre el modo de investigación de NovaSeq 6000Dx.
N.º de material 20023471 N.º de documento 1000000019358 v16	Junio de 2022	Se han eliminado las instrucciones de preparación de cartuchos de grupos incorrectas
N.º de material 20023471 N.º de documento 1000000019358 v15	Mayo de 2022	Añadido: <ul style="list-style-type: none"> • Información de Illumina Connected Analytics. • La comprobación del prevacío. • Aclaración de que DPX3 es compatible con los kits de reactivos v1.0 y v1.5.
N.º de material 20023471 N.º de documento 1000000019358 v14	Septiembre de 2020	Se han actualizado los números de catálogo de los kits disponibles para reflejar las ofertas actuales de kits de reactivos v1.0 y v1.5.

Documento	Fecha	Descripción del cambio
N.º de material 20023471 N.º de documento 1000000019358 v13	Julio de 2020	Se ha añadido información complementaria sobre la v1.5 del kit NovaSeq 6000 Reagent y la v1.7 del software, que posibilita el desglose de los datos de medición por carril en determinados campos de datos de medición de los experimentos.
N.º de material 20023471 N.º de documento 1000000019358 v12	Febrero de 2020	Se ha movido la información de desnaturalización y dilución al nuevo Guía de desnaturalización y dilución para el sistema NovaSeq 6000 (n.º de documento 1000000106351).
N.º de material 20023471 N.º de documento 1000000019358 v11	Febrero de 2019	Se ha modificado la tabla de plexicidad del grupo de bibliotecas para el flujo de trabajo de NovaSeq Xp.
N.º de material 20023471 N.º de documento 1000000019358 v10	Enero de 2019	Se ha añadido la información sobre la celda de flujo SP. Se han modificado las tablas de plexicidad recomendada del grupo de bibliotecas para los flujos de trabajo NovaSeq Standard y NovaSeq Xp.
N.º de material 20023471 N.º de documento 1000000019358 v09	Noviembre de 2018	Se ha corregido el enlace a la página de asistencia de NovaSeq 6000. Se ha corregido una advertencia que faltaba.

Documento	Fecha	Descripción del cambio
<p>N.º de material 20020483 N.º de documento 1000000019358 v08</p>	<p>Septiembre de 2018</p>	<p>Se ha añadido información sobre el kit S4 de NovaSeq 6000 (200 ciclos). Se ha añadido información sobre las cuentas de usuario. Se han añadido las concentraciones de carga de celdas individuales. Se han modificado las instrucciones para el inicio escalonado de los experimentos. Se han modificado las instrucciones de inicio de sesión en BaseSpace. Se han modificado las instrucciones de las comprobaciones previas al experimento. Se han añadido notas sobre el requisito de confirmar el apagado o el reinicio. Se ha añadido una nota sobre los lavados posteriores al experimento que quedan por terminar. Se ha aclarado la información sobre el lavado de mantenimiento. Se ha aclarado la información de actualización del software.</p>

Documento	Fecha	Descripción del cambio
<p>N.º de material 20020483 N.º de documento 1000000019358, v07</p>	<p>Abril de 2018</p>	<p>Se ha aclarado el uso del tubo de bibliotecas para mezclar reactivos en el paso de impulso antes de la secuenciación.</p> <p>Se ha añadido una tabla con descripciones de los símbolos a los consumibles o al embalaje de los consumibles.</p> <p>Se ha añadido información relativa al servicio de supervisión proactiva de Illumina en la sección Modos de configuración del experimento.</p> <p>Se ha añadido información acerca de la API de LIMS de NovaSeq.</p> <p>Se han actualizado las descripciones de software a Software de control NovaSeq v1.4.0.</p> <p>Se ha actualizado el número habitual de lecturas que superan el filtro para las celdas de flujo S2.</p> <p>Se han actualizado las concentraciones de carga recomendadas para el flujo de trabajo de NovaSeq Xp.</p> <p>Se han actualizado las instrucciones para la apertura del embalaje de la celda de flujo.</p> <p>Se ha aclarado el procedimiento de carga de bibliotecas en la celda de flujo.</p> <p>Se ha añadido una nota acerca de la disponibilidad del instrumento para iniciar un lavado de mantenimiento.</p> <p>Se ha añadido información acerca del temporizador de cuenta atrás de inicio escalonado.</p> <p>Se han modificado las instrucciones sobre cómo añadir o eliminar reglas de SRP.</p>

Documento	Fecha	Descripción del cambio
<p>N.º de documento 1000000019358, v06</p>	<p>Febrero de 2018</p>	<p>Se ha añadido una nota en la sección Celda de flujo para indicar que, al utilizar una celda de flujo S1, se requiere la versión de software 1.3.1.</p> <p>Se han actualizado las descripciones y el volumen de carga del flujo de trabajo de NovaSeq Standard en la tabla <i>Métodos de carga de bibliotecas</i>.</p> <p>Se ha añadido una nota de precaución a la sección <i>Componentes del kit de reactivos</i>.</p> <p>Se han añadido tubos de 0,5 y 1,5 ml, así como puntas de pipeta para pipetas de 20, 200 y 1000 µl a la tabla Consumibles. Se ha añadido un tubo graduado a la tabla Equipo.</p> <p>Se ha añadido la sección <i>Preparación de la celda de flujo</i> a los capítulos 4 y 5, y se han movido los pasos del capítulo 6 a estas secciones.</p> <p>Se ha actualizado el volumen total para la celda de flujo S1 en el capítulo 4.</p> <p>Se ha añadido la tabla Plexicidad recomendada del grupo de bibliotecas a la sección <i>Creación de un grupo de bibliotecas normalizadas</i> en el capítulo 4.</p> <p>Se han actualizado los pasos de la sección <i>Descongelación de cartuchos de SBS y de grupos</i> en los capítulos 4 y 5.</p> <p>Se han aclarado las instrucciones de descongelación en la sección <i>Preparación de la celda de flujo</i>.</p> <p>Se ha actualizado la información sobre descongelación en la sección <i>Concentraciones de carga recomendadas de NovaSeq Xp</i>.</p> <p>Se ha actualizado la tabla Plexicidad recomendada del grupo de bibliotecas en la sección <i>Creación de un grupo de bibliotecas normalizadas</i> en el capítulo 5.</p> <p>Se ha añadido una frase especificando que la celda de flujo debe utilizarse en un plazo máximo de 12 horas tras su retirada del embalaje a las secciones <i>Resumen del flujo de trabajo de NovaSeq Xp</i> y <i>Preparación de la celda de flujo</i>.</p>

Documento	Fecha	Descripción del cambio
<p>N.º de documento 1000000019358, v05</p>	<p>Diciembre de 2017</p>	<p>Se ha añadido una aclaración sobre el tubo de bibliotecas vacío para el flujo de trabajo de NovaSeq Xp en el diagrama Flujo de trabajo de secuenciación.</p> <p>En la sección Desnaturalización de grupos de bibliotecas y control PhiX opcional para el flujo de trabajo de NovaSeq Standard, se han actualizado los volúmenes de Tris-HCl en la tabla del paso 5.</p> <p>En la sección Preparación de la mezcla maestra de ExAmp para el flujo de trabajo de NovaSeq Xp, se ha añadido una nota después del paso 4 para indicar que es necesario agitar la mezcla en un vórtice para obtener los mejores resultados.</p> <p>En la sección Carga de bibliotecas del apartado Celda de flujo para el flujo de trabajo de NovaSeq Xp, se ha añadido un recordatorio después del paso 3 para que se carguen las muestras lentamente.</p>
<p>N.º de material 20023471 N.º de documento 1000000019358 v04</p>	<p>Octubre de 2017</p>	<p>Se ha añadido una carga de carril individual a la lista de funciones del instrumento.</p> <p>Se ha añadido a "Consumibles" el kit NovaSeq Xp de 2 carriles y el kit NovaSeq Xp de 4 carriles. Se han añadido el paquete de distribuidores de 2 carriles NovaSeq Xp y el paquete de distribuidores de 4 carriles de NovaSeq Xp.</p> <p>Se han añadido a "Equipo" la plataforma de la celda de flujo de NovaSeq Xp y la pipeta de 200 µl para el flujo de trabajo de NovaSeq Xp.</p> <p>Se ha añadido el capítulo "Preparación de consumibles" para el flujo de trabajo de NovaSeq Xp.</p> <p>Se ha movido la sección "Vaciado de botellas de reactivos utilizados" del capítulo "Secuenciación" al principio del capítulo "Flujos de trabajo de NovaSeq Standard y NovaSeq Xp".</p> <p>Se han actualizado las tablas Concentración de bibliotecas agrupadas y Concentración de carga recomendada para el flujo de trabajo de NovaSeq Standard.</p>

Documento	Fecha	Descripción del cambio
<p>N.º de material 20020483</p> <p>N.º de documento 1000000019358 v03</p>	<p>Septiembre de 2017</p>	<p>Se han actualizado las descripciones de software a Software de control NovaSeq v1.2, lo cual incluye la compatibilidad con las celdas de flujo S1 y S4.</p> <p>Se han añadido requisitos de espacio en disco para los experimentos de celda de flujo doble con celdas S1 y S4.</p> <p>Se ha indicado el requisito para el nombre de ciertos archivos *.json.</p> <p>Se ha reorganizado la información general sobre los kits en el capítulo <i>Kits y accesorios</i>. En este capítulo se recoge información sobre configuraciones, componentes y etiquetado de compatibilidad de los kits de reactivos y de carga de bibliotecas.</p> <p>Se ha añadido el Kit de reactivos NovaSeq 6000 a los consumibles proporcionados por el usuario.</p> <p>Se han actualizado las instrucciones sobre grupos y desnaturalización de bibliotecas para incluir información sobre las celdas de flujo S1 y S4.</p> <p>Se han actualizado las instrucciones de descongelado de cartuchos de reactivos para añadir un baño con agua de dos horas para S1 y S2 y de cuatro horas para S4.</p> <p>Se han actualizado las descripciones de los tubos de bibliotecas, de los cartuchos de reactivos y de las celdas de flujo para que incluyan los componentes de S4.</p> <p>Se ha añadido un apartado sobre las actualizaciones automáticas de software en el capítulo de Mantenimiento.</p> <p>Se ha sustituido la referencia por <i>Reducing Whole-Genome Data Storage Footprint (N.º de pub 970-2012-013)</i> por <i>NovaSeq Series and HiSeq X Ten Data Quality Comparison (N.º de pub. 770-2017-010)</i>.</p> <p>Se ha añadido una nota al paso 3 de la sección <i>Introducción de parámetros del experimento</i> en el capítulo 6.</p> <p>Se ha actualizado la sección <i>Placas de la celda de flujo</i> para incluir información sobre las celdas de flujo S1 y S4.</p>

Documento	Fecha	Descripción del cambio
<p>N.º de material 20018871 N.º de documento 1000000019358 v02</p>	<p>Abril de 2017</p>	<p>Se ha añadido la siguiente información:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Consumibles suministrados por Illumina necesarios para un experimento. • Condiciones de almacenamiento de componentes del kit de reactivos. • Recomendaciones para la concentración de carga de las bibliotecas. • Dilución de NaOH para dos celdas de flujo. • Paso para poner la celda de flujo a temperatura ambiente antes de cargarla. • Paso de cambio de guantes después de vaciar las botellas de reactivos utilizados. • Configuración de la salida del LIMS para sistemas de LIMS de terceros. • Convención de nomenclatura para hojas de muestras. • Iconos de gestión de procesos y solución de problemas. • Apéndice que contiene funciones de seguridad de Windows e instrucciones de configuración. • Información de contacto para asistencia técnica. <p>Se ha aumentado el tiempo de descongelación del cartucho de reactivo a 4 horas.</p> <p>Se han modificado las instrucciones de enriquecimiento de PhiX para cambiar el volumen de enriquecimiento de PhiX del 1 % a 0,9 µl y utilizar 10 mM de Tris-HCl, pH 8,5 para diluir 10 nM de PhiX.</p> <p>Se han modificado las instrucciones para limpiar la celda de flujo y la platina de la celda de flujo solamente cuando hay visibles partículas.</p> <p>Se ha actualizado la frecuencia de lavado de mantenimiento a cada 14 días.</p> <p>Se han reorganizado y unificado las instrucciones sobre la preparación de consumibles para mejorar la continuidad.</p> <p>Las puertas de cristal han cambiado de nombre a "puertas del compartimento de líquidos".</p>

Documento	Fecha	Descripción del cambio
N.º de material 20018406 N.º de documento 1000000019358 v01	Marzo 2017	Se ha corregido el nombre de una columna de la pantalla Process Management (Administración de procesos) a Sequencing (Secuenciación).
N.º de material 20015871 N.º de documento 1000000019358 v00	Febrero de 2017	Publicación inicial.



Illumina, Inc.
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 (EE. UU.)
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (fuera de Norteamérica)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

Para uso exclusivo en investigación. Prohibido su uso en procedimientos de diagnóstico.

© 2025 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

illumina[®]