illumina

NovaSeq 6000

Guide du système de séquençage

PROPRIÉTÉ D'ILLUMINA Document n° 1000000019358 v18 Avril 2025

Destiné à la recherche uniquement.

Ce document et son contenu sont la propriété exclusive d'Illumina, Inc. et ses filiales (« Illumina »), et sont destinés à un usage contractuel de ses clients en lien avec l'utilisation du ou des produits décrits dans la présente et à aucune autre utilisation. Ce document et son contenu ne seront utilisés ou distribués à aucune autre fin et/ou ne seront communiqués, divulgués ou reproduits d'aucune façon sans le consentement écrit préalable d'Illumina. Par le biais de ce document, lllumina ne cède aucune licence en vertu de son brevet, de sa marque de commerce, de son copyright ou de ses droits au titre du droit commun ni des droits similaires d'un tiers quelconque.

Les instructions présentes dans ce document doivent être strictement et explicitement respectées par le personnel qualifié et correctement formé afin d'assurer une utilisation correcte et sécuritaire du ou des produits décrits dans la présente. Tout le contenu de ce document doit être entièrement lu et compris avant d'utiliser le ou les produits.

LE FAIT DE NE PAS LIRE ENTIÈREMENT ET DE NE PAS SUIVRE EXPLICITEMENT TOUTES LES INSTRUCTIONS CONTENUES DANS LA PRÉSENTE PEUT CAUSER DES DOMMAGES AU OU AUX PRODUITS, DES BLESSURES AUX PERSONNES, Y COMPRIS AUX UTILISATEURS OU À D'AUTRES PERSONNES, ET DES DOMMAGES À D'AUTRES BIENS, ET ANNULERA TOUTE GARANTIE APPLICABLE AU OU AUX PRODUITS.

ILLUMINA N'ASSUME AUCUNE RESPONSABILITÉ QUANT AUX DOMMAGES DÉCOULANT D'UNE MAUVAISE UTILISATION DU OU DES PRODUITS DÉCRITS DANS LA PRÉSENTE (Y COMPRIS LES PARTIES DE CELLE-CI OU LE LOGICIEL).

© 2025 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

Toutes les marques sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs propriétaires respectifs. Pour en savoir plus sur les marques, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.

Destiné à la recherche uniquement.

Table des matières

Présentation	1
Présentation du séquençage	2
Flux de travail de séquençage	4
Composants de l'instrument	7
Trousses et accessoires	14
Présentation des trousses	14
Composants de la trousse de réactif	16
Composants de la trousse NovaSeq Xp	20
NovaSeq Xp Flow Cell Dock	21
Consommables et équipement fournis par l'utilisateur	22
Descriptions des symboles	26
Configuration du système	.28
Démarrer l'instrument	28
Paramètres de configuration	30
Flux de travail standard : Préparation des consommables	.38
Bonnes pratiques	38
Vider les flacons de réactifs usagés	
Préparer la Flow Cell	41
Grouper et dénaturer les bibliothèques pour le séquençage	41
Flux de travail NovaSeg Xp : Préparation des consommables	43
Résumé du flux de travail NovaSeg Xp	
Méthodes	44
Décongeler la cartouche SBS et la cartouche d'amplification	45
Vider les flacons de réactifs usagés	46
Préparation de la Flow Cell et de la station	47
Décongeler les réactifs ExAmp	47
Vérifiez la pression de vide de la Flow Cell	48
Grouper, denaturer et charger les bibliothèques pour le sequençage	49
Séquençage	55
Configurez une série de séquençage	55
Surveiller la progression de la série	64

Démarrage échelonné d'analyses	
Supprimer la série	
Levere automatique pest cérie	66
Maintenance	69
Maintenance préventive	69
Effectuer un lavage de maintenance	69
Mises à jour des logiciels	73
Dépannage	75
Ressources de dépannage	75
Fichiers de dépannage	75
Erreurs lors de la vérification avant analyse	76
Dépannage des problèmes de gestion du processus	77
Echec de l'analyse avant la génération d'amplifiats	77
Arrêt de l'instrument	
Arret de finstrument	
Real-Time Analysis	80
Aperçu de Real-Time Analysis	80
Flux de travail de Real-Time Analysis	83
Dossiers et fichiers de sortie	87
Structure des dossiers de sortie de séguencage	
Fichiers de sortie de séquençage	
Sécurité Windows	89
Exigences relatives au mot de passe	89
Pare-feu Windows	
Boîte à outils Enhanced Mitigation Experience Toolkit	
Software Restriction Policies	89
Considérations relatives au mode de recherche NovaSeq	
6000Dx	92
Introduction	
Options de planification de la série NovaSeg 6000Dx	
Compatibilité des consommables NovaSea 6000Dx	
Indicateurs de mode de l'instrument NovaSeq 6000Dx	
Desseurses et Déférences	0.4
	94

Document n° 1000000019358 v18

Destiné à la recherche uniquement.

Historique des modifications		94
------------------------------	--	----

Document n° 100000019358 v18

Destiné à la recherche uniquement.

Présentation

Introduction

Le système 6000 Illumina[®] NovaSeq[™] allie un débit modulable et une technologie de séquençage flexible dans une plateforme à échelle de production offrant l'efficacité et la rentabilité des systèmes de paillasse.

Fonctionnalités

- Séquençage modulable : le débit de séquençage du NovaSeq 6000 est modulable et peut atteindre une production à grande échelle tout en générant des données de qualité pour un vaste éventail d'applications.
- Résultat réglable : le NovaSeq 6000 est un système à double Flow Cell dont la plage de résultats est très large. Séquencez une Flow Cell, ou séquencez deux Flow Cell avec des longueurs de lecture différentes simultanément. Mélangez et combinez quatre types de Flow Cell et différentes longueurs de lecture.
- Flow Cell structurée : la Flow Cell structurée génère des amplifiats faiblement espacés. Le faible espacement entre les nanopuits augmente la densité des amplifiats et les données de sortie.
- Mélange d'ExAmp sur instrument : le NovaSeq 6000 mélange les réactifs ExAmp avec la bibliothèque, amplifie la bibliothèque et génère les amplifiats, pour simplifier le flux de travail de séquençage.
- Chargement de lignes individuelles : la station de la Flow Cell NovaSeq Xp permet le préchargement des bibliothèques dans les lignes individuelles de la Flow Cell et réduit le volume de chargement de la bibliothèque.
- Balayage en ligne à débit élevé : le NovaSeq 6000 est doté d'une caméra avec technologie de balayage bidirectionnel pour une imagerie rapide de la Flow Cell en deux canaux de couleur simultanément.
- **Real-Time Analysis (RTA)** : le NovaSeq 6000 utilise une version du logiciel RTA appelée RTA3. Ce logiciel intégré analyse les images et définit les bases.
- Intégration de BaseSpace Sequence Hub : le flux de travail de séquençage est intégré à BaseSpace Sequence Hub, l'environnement informatique consacré à la génomique d'Illumina pour l'analyse, le stockage et le partage des données. À mesure que la série progresse, les fichiers de sortie sont transmis à l'environnement en temps réel.
- BaseSpace Clarity LIMS prêt : améliorez l'efficacité opérationnelle grâce au suivi de bout en bout des échantillons et des réactifs, aux flux de travail automatisés et au fonctionnement intégré de l'instrument.

 Illumina Connected Analytics Intégration : Logiciel de commande NovaSeq la version 1.8 et les versions ultérieures sont intégrées à Illumina Connected Analytics, l'environnement de cloud génomique d'Illumina pour l'analyse, le stockage et le partage des données. Si ICA est activé dans votre région, vous pouvez sélectionner votre domaine ICA pendant la configuration de la série. À mesure que la série progresse, les fichiers de sortie sont transmis à l'environnement en temps réel.

Ressources supplémentaires

Les pages d'assistance NovaSeq 6000 Sequencing System sur le site Web Illumina fournissent des ressources du système supplémentaires. Ces ressources comprennent les logiciels, la formation, les produits compatibles et la documentation suivante. Consultez toujours les pages d'assistance pour connaître les dernières versions.

Ressource	Description
Guide de sécurité et de conformité NovaSeq Series (document n° 1000000019357)	Fournit des informations sur les considérations relatives à la sécurité opérationnelle, les déclarations de conformité et l'étiquetage de l'instrument.
Guide de conformité du lecteur RFID (document n° 1000000002699)	Fournit des informations sur le lecteur RFID dans l'instrument, y compris les certifications de conformité et les considérations relatives à la sécurité.
Guide des primers personnalisés de NovaSeq Series (document nº 100000022266)	Fournit des informations sur le remplacement des amorces de séquençage Illumina par des amorces de séquençage personnalisées.
Guide du système NovaSeq 6000 (document n° 1000000019358)	Fournit un aperçu des composants de l'instrument, des instructions pour la préparation des consommables de séquençage, des instructions pour l'utilisation de l'instrument et des procédures de maintenance et de dépannage.

Présentation du séquençage

Génération d'amplifiats

Durant la génération d'amplifiats, les molécules d'ADN uniques sont ensuite liées à la surface de la Flow Cell, puis amplifiées simultanément de façon à former des amplifiats. Pour le flux de travail Standard, le mélange maître ExAmp est mélangé avec les bibliothèques intégrées à l'instrument avant la génération de l'amplifiat. Pour le flux de travail NovaSeq Xp, les réactifs et les bibliothèques ExAmp sont mélangés et livrés à la Flow Cell en dehors de l'instrument. Les volumes varient selon le type de Flow Cell et le flux de travail.

Séquençage

Les amplifiats sont évalués par balayage bidirectionnel et par séquençage chimique à deux canaux. La caméra utilise des capteurs qui détectent les lumières rouge et verte pour effectuer l'imagerie de chaque témoin et générer simultanément des images rouges et vertes de l'ensemble des témoins. Après l'imagerie, la définition des bases est effectué pour les amplifiats dans chaque mosaïque en fonction du rapport du signal rouge/vert pour chaque amplifiat, qui est basé sur l'emplacement déterminé par la Flow Cell modélisée. Ce processus se répète pour chaque cycle de séquençage.

Analyse

À mesure que la série progresse, le Logiciel de commande NovaSeq (NVCS) transfère automatiquement les fichiers de définition des bases (*.cbcl) vers l'emplacement de sortie spécifié pour l'analyse des données.

Plusieurs méthodes d'analyse sont disponibles et dépendent de votre application. Pour plus d'informations, consultez la page BaseSpace Sequence Hub du site d'assistance Illumina.

Flux de travail de séquençage





Décongeler les cartouches SBS et de réactifs d'amplification.

Grouper et dénaturer les bibliothèques Pour le flux de travail Standard, ajoutez des bibliothèques au tube de bibliothèques. Pour le flux de travail NovaSeq Xp, chargez le mélange ExAmp/bibliothèque sur la Flow Cell. Pour les deux flux de travail, chargez le tube de bibliothèques dans la cartouche d'amplification décongelée.

Pour plus d'informations, consultez la section Générateur du protocole de dénaturation et de dilution.

Dans l'interface du logiciel, sélectionnez **Sequence** (Séquence) et indiquez une série de Flow Cell unique ou double.

Déchargez les consommables de la série précédente et chargez les nouveaux consommables pour la série en cours.

Indiquez les paramètres de la série à partir de l'écran Run Setup (Configuration de la série). Si BaseSpace Sequence Hub est configuré, connectez-vous à partir de l'écran Log In (Connexion). Une fois les vérifications préalables à la série terminées, la série commence automatiquement.



Surveillez la série à partir de l'écran Sequence (Séquence), BaseSpace Sequence Hub si la surveillance de la série est activée, ou d'un ordinateur réseau utilisant Sequencing Analysis Viewer. Les données sont transférées vers le dossier de sortie spécifié.



Un lavage d'instrument commence automatiquement lorsque le séquençage est terminé.

Méthodes de chargement de bibliothèques

Les bibliothèques sont chargées sur une Flow Cell NovaSeq 6000 selon l'une des deux méthodes suivantes, en fonction du flux de travail sélectionné. La configuration d'une série de séquençage diffère en fonction du flux de travail. Assurez-vous de toujours suivre les instructions se rapportant à votre méthode. Consultez *Flux de travail standard : Préparation des consommables* à la page 38 et *Flux de travail NovaSeq Xp : Préparation des consommables* à la page 43.

Tableau 1 Méthodes de chargement de bibliothèques

Flux de travail	Chargement du groupe de bibliothèques et méthode de mélange ExAmp	Adressabilité des lignes individuelles et analyse des données	Volume de chargement [*] Modes SP/S1–S2–S4 (µI)
Norme	Un seul groupe de bibliothèques est chargé dans le tube de bibliothèques, mélangé dans le tube de bibliothèques avec les réactifs ExAmp, et envoyé automatiquement à la Flow Cell pour l'amplification et le séquençage. Une étape de suralimentation avant le séquençage utilise des réactifs dans la cartouche d'amplification et le tube de bibliothèques pour créer un mélange de conditionnement qui aide à augmenter l'efficacité de l'amplification.	Un seul groupe de bibliothèques est distribué et séquencé sur toutes les lignes de la Flow Cell. Les lectures de toutes les lignes sont analysées sous forme agrégée.	150–225– 465 μl (Flow Cell complète)

Destiné à la recherche uniquement.

Flux de travail	Chargement du groupe de bibliothèques et méthode de mélange ExAmp	Adressabilité des lignes individuelles et analyse des données	Volume de chargement [*] Modes SP/S1–S2–S4 (µl)
NovaSeq Xp	Une ou plusieurs bibliothèques (le nombre correspond au nombre de lignes de la Flow Cell) sont mélangées manuellement avec les réactifs ExAmp en dehors de l'instrument et chargées directement dans les lignes individuelles de la Flow Cell à l'aide de la station de la Flow Cell NovaSeq Xp. La Flow Cell remplie est ensuite chargée sur l'instrument pour l'amplification et le séquençage. Une étape de suralimentation avant le séquençage utilise le tube de bibliothèques vide pour mélanger les réactifs de la cartouche d'amplification afin de créer un mélange de conditionnement qui contribue à augmenter l'efficacité de l'amplification.	Chaque bibliothèque est chargée dans une ligne distincte de la Flow Cell, qui est ensuite séquencée. Différents groupes, aliquotes du même groupe ou combinaisons arbitraires peuvent être utilisés. Les lectures des différentes lignes sont analysées individuellement ou de manière agrégée, en conséquence.	27–33–45 μl (ligne individuelle)

^{*}Le flux de travail NovaSeq Xp nécessite une concentration de bibliothèques dénaturées inférieure de 25 à 50 % par rapport au flux de travail standard.

Destiné à la recherche uniquement.

Composants de l'instrument

Le NovaSeq 6000 Sequencing System comprend un écran tactile, une barre d'état, un bouton d'alimentation avec port USB et trois compartiments adjacents.

Figure 1 Composants externes



- A. Écran tactile : affiche l'interface du NVCS pour la configuration du système et des analyses ainsi que la surveillance.
- B. **Compartiment des composants optiques** : contient les composants optiques qui permettent l'imagerie à double surface des Flow Cell.
- C. **Compartiment des liquides** : contient les cartouches de réactifs et de tampon ainsi que les flacons de réactifs usagés.
- D. Compartiment de Flow Cell : contient les Flow Cell.
- E. **Barre d'état** : Indique que la Flow Cell est prête pour le séquençage (vert), en traitement (bleu) ou qu'elle nécessite une intervention (orange).
- F. **Bouton d'alimentation et ports USB** : accès au bouton d'alimentation et aux connexions USB pour les composants périphériques.

Compartiment de Flow Cell

Le compartiment de Flow Cell contient la platine de Flow Cell, qui maintient en place la Flow Cell A à gauche et la Flow Cell B à droite. Il y a de chaque côté quatre pinces qui positionnent et maintiennent en place automatiquement la Flow Cell.

Une cible d'alignement optique, fixée sur la platine de Flow Cell, détecte et corrige les problèmes de lecteur optique. À la demande du NVCS, la cible d'alignement optique réaligne le système et fait la mise au point de la caméra pour améliorer les résultats de séquençage.

Figure 2 Platine de Flow Cell

- A. Portoir de Flow Cell A
- B. Portoir de Flow Cell B
- C. Pince de Flow Cell (une sur quatre par côté)
- D. Cible d'alignement optique

Le logiciel de commande contrôle l'ouverture et la fermeture de la porte du compartiment de Flow Cell. La porte s'ouvre automatiquement pour le chargement de la Flow Cell avant une analyse ou un lavage de maintenance. Après le chargement, le logiciel referme la porte du compartiment, met en place la Flow Cell, puis active les pinces et le joint de décompression. Les capteurs vérifient la présence et la compatibilité de la Flow Cell.

Destiné à la recherche uniquement.

Compartiment des liquides

Pour préparer l'analyse, il faut accéder au compartiment des liquides afin de charger les réactifs, le tampon et les flacons vides dans lesquels seront versés les réactifs usagés. Le compartiment des liquides est doté d'une porte à deux battants et est divisé en deux sections semblables, de chaque côté, où se trouvent la Flow Cell A et la Flow Cell B.





- A. **Petit flacon de réactifs usagés** : contient les réactifs usagés provenant de la cartouche d'amplification, avec un porte-bouchon pour faciliter le stockage du bouchon.
- B. **Grand flacon de réactifs usagés** : contient les réactifs usagés provenant de la cartouche SBS et de la cartouche de tampon, avec un porte-bouchon pour faciliter le stockage du bouchon.
- C. Réfrigérant pour réactifs : réfrigère la cartouche SBS et la cartouche d'amplification.
- D. **Tiroir du réfrigérant pour réactifs** : les positions à code de couleurs abritent la cartouche SBS à gauche (étiquette grise) et la cartouche d'amplification à droite (étiquette orange).
- E. **Tiroir de tampon** : contient le grand flacon de réactifs usagés à gauche et la cartouche de tampon à droite.

Réactifs usagés

Le système fluidique est conçu de façon à évacuer les réactifs de la cartouche d'amplification, qui sont potentiellement dangereux, dans le petit flacon de réactifs usagés. Les réactifs de la cartouche SBS et de la cartouche de tampon sont acheminés dans le grand flacon de réactifs usagés. Il peut toutefois y avoir une contamination croisée entre les flux de réactifs usagés. Considérez que les deux flacons de réactifs usagés contiennent des déchets potentiellement dangereux. La fiche de sécurité (SDS) comporte toutes les précisions utiles sur les éléments chimiques.

Si le système est configuré de façon à évacuer les réactifs usagés à l'extérieur de l'appareil, le flux se rendant vers le grand flacon de réactifs usagés est dirigé à l'extérieur de l'appareil. Les réactifs de la cartouche d'amplification sont toujours évacués dans le petit flacon de réactifs usagés.

Logiciel système

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

- Logiciel de commande NovaSeq (NVCS) : vous guide tout au long des étapes de configuration d'une série de séquençage, contrôle les opérations de l'instrument et affiche des statistiques à mesure de la progression de la série. Pour démontrer le déchargement et le chargement corrects des consommables, NVCS lit des vidéos pédagogiques pendant la configuration de la série.
- **Real-Time Analysis (RTA)** : ce logiciel effectue l'analyse des images et la définition des bases pendant l'analyse. NovaSeq 6000 utilise RTA3, dont l'architecture, la sécurité et les autres caractéristiques améliorées optimisent la performance. Pour en savoir plus, consultez la section *Real-Time Analysis* à la page 80.
- Universal Copy Service (UCS) : ce logiciel copie les fichiers de sortie de RTA3 et de NVCS dans le dossier de sortie tout au long de l'analyse. Le cas échéant, le service transfère également des données vers BaseSpace Sequence Hub. Si le Universal Copy Service est interrompu durant une analyse, le service fait plusieurs tentatives de reconnexion et reprend automatiquement le transfert de données.

Icônes d'état

Dans l'interface du NVCS, l'icône d'état indique l'état de l'analyse. Les chiffres affichés sur l'icône indiquent le nombre de situations pour un état.

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

lcône d'état	Nom de l'état	Description
	État correct	Le système est normal.

Tableau 2	NVCS Icônes d'état
-----------	--------------------

lcône d'état	Nom de l'état	Description
	Traitement	Le système est en cours de traitement.
A	Avertissement	Un avertissement a été généré et nécessite une attention. Les avertissements n'interrompent pas la série et ne nécessitent pas d'intervention.
0	Erreur	Une erreur s'est produite. Les erreurs nécessitent une intervention avant la poursuite de la série.

Gestion du processus

L'écran Process Management (Gestion du processus) permet d'accéder au moteur de calcul (CE) et au lecteur C. Utilisez l'écran pour surveiller la progression de la série, supprimer des séries et gérer l'espace disque. Ne supprimez jamais de fichiers ou de dossiers directement sur le lecteur C.

L'écran Process Management (Gestion du processus) affiche l'espace libre sur le disque dur, l'espace utilisé sur le moteur de calcul et le lecteur C, ainsi que l'état des analyses qui utilisent de l'espace disque. Les colonnes Run Date (Date de l'analyse) et Name (Nom) permettent d'identifier chaque analyse. Les colonnes Run Status (Statut de la série), BaseSpace et Network (Réseau) affichent l'état de chaque processus pour une série.

Tableau 3 Icônes d'état de l'écran Process Management (Gestion du processus)

Processus	lcône	Description
État de l'analyse	Exécution en cours	L'analyse est en cours.

O L

Le séquençage est terminé pour l'analyse.

Terminé

Destiné à la recherche uniquement.

Processus	lcône	Description
Réseau	Copie en cours	Les fichiers sont en train d'être copiés dans le dossier de sortie sur le réseau.
	V Terminé	Tous les fichiers ont été copiés dans le dossier de sortie sur le réseau.
	S.O.	Sans objet. Soit l'analyse n'est pas configurée de sorte que les fichiers sont téléchargés dans un dossier de sortie sur le réseau soit l'état du téléchargement n'est pas connu. Pour le dépannage, consultez la section <i>Dépannage des problèmes de</i> <i>gestion du processus</i> à la page 77.
Cloud	Téléchargement en cours	Les fichiers sont en cours de téléchargement vers l'option d'hébergement cloud sélectionnée.
-	o Terminé	Tous les fichiers sont téléchargés vers l'option d'hébergement cloud sélectionnée.
	S.O.	Sans objet. Soit l'analyse n'est pas configurée de sorte que les fichiers soient téléchargés vers le cloud soit l'état du téléchargement n'est pas connu. Pour le dépannage, consultez la section <i>Dépannage des problèmes de</i> <i>gestion du processus</i> à la page 77.

Exigences minimales en matière d'espace

Avant qu'une série de Flow Cell puisse commencer, les exigences minimales d'espace pour CE et le lecteur C doivent être respectées.

i Pour les analyses à Flow Cell unique, les exigences d'espace minimal correspondent à la moitié de celles indiquées dans le tableau suivant.

Tableau 4 Espace minimum requis pour CE et C:\ pour les séries à double Flow Cell

Flow Cell	Espace CE par cycle (Gb)	C:\ Espace par paire de Flow Cell (Gb)
SP	0.5	5
S1	1.35	20
S2	2.7	20
S4	4.3	40

Destiné à la recherche uniquement.

Pour calculer l'espace total requis dans le CE pour la série, multipliez l'espace minimum requis par le CE par cycle par la somme des valeurs de longueur de lecture 1, lecture 2, index 1 et index 2 (consultez la section *Saisir les paramètres de la série* à la page 60). Par exemple, pour une série de 150 lectures appariées, la double Flow Cell S4 fonctionne avec les deux index 8 bases de long, l'espace requis sur le CE est de 1,37 Tb.

Pour plus d'informations sur l'effacement de l'espace disque, consultez la section *Supprimer la série* à la page 66.

Destiné à la recherche uniquement.

Trousses et accessoires

Présentation des trousses

L'exécution d'une série sur le NovaSeq 6000 nécessite un Trousse de réactifs NovaSeq 6000 Reagent. Le flux de travail NovaSeq Xp nécessite également une trousse NovaSeq Xp. Ces trousses sont disponibles dans les configurations suivantes.

Pour une liste complète des éléments nécessaires à une série, consultez la section *Consommables et équipement fournis par l'utilisateur* à la page 22.

Nom de la trousse	Réactifs v1.0 Illumina n° de référence	v1.5 Réactifs Illumina N° de référence
Trousse de réactif S4 Reagent NovaSeq 6000 (300 cycles) – paquet de 40	20039236	S.O.
Trousse de réactif S4 Reagent NovaSeq 6000 (300 cycles) – paquet de 20	20039234	S.O.
Trousse de réactif S4 Reagent NovaSeq 6000 (300 cycles) – paquet de 10	20039233	S.O.
Trousse de réactif S4 Reagent Kit NovaSeq 6000 (300 cycles)	20012866	20028312
Trousse de réactif S4 Reagent Kit NovaSeq 6000 (200 cycles)	20027466	20028313
Trousse de réactif S4 Reagent Kit NovaSeq 6000 (35 cycles)	S.O.	20044417
Trousse de réactif S2 Reagent Kit NovaSeq 6000 (300 cycles)	20012860	20028314
Trousse de réactif S2 Reagent Kit NovaSeq 6000 (200 cycles)	20012861	20028315
Trousse de réactif S2 Reagent Kit NovaSeq 6000 (100 cycles)	20012862	20028316
Trousse de réactif S1 Reagent Kit NovaSeq 6000 (300 cycles)	20012863	20028317

Tableau 5 Configurations de la trousse

Destiné à la recherche uniquement.

Nom de la trousse	Réactifs v1.0 Illumina n° de référence	v1.5 Réactifs Illumina N° de référence
Trousse de réactif S1 Reagent Kit NovaSeq 6000 (200 cycles)	20012864	20028318
Trousse de réactif S1 Reagent Kit NovaSeq 6000 (100 cycles)	20012865	20028319
NovaSeq 6000 Trousse de réactif SP Reagent Kit (500 cycles)	20029137	20028402
NovaSeq 6000 Trousse de réactif SP Reagent Kit (300 cycles)	20027465	20028400
NovaSeq 6000 Trousse de réactif SP Reagent Kit (200 cycles)	20040326	20040719
NovaSeq 6000Trousse de réactif SP Reagent Kit (100 cycles)	20027464	20028401

Étiquetage de compatibilité

Pour identifier les composants de trousse compatibles, les Flow Cell et les cartouches affichent des symboles indiquant le mode de la trousse : **SP**, **S1**, **S2** ou **S4**. Les collecteurs NovaSeq Xp prennent en charge plusieurs modes et sont étiquetés soit 2 lignes (pour les Flow Cell SP, S1 et S2) soit 4 lignes (pour les Flow Cell S4).

Les composants avec des modes différents ne peuvent pas être utilisés dans la même série. Par exemple, n'appairez pas les cartouches S1 avec une Flow Cell S2.

Le mélange des cartouches SBS/CPE v1.0 et v1.5 n'est pas autorisé et entraîne un message d'erreur.

Mode de la trousse	Marquage sur l'étiquette	Description
Composants de trousse SP	SP	Une Flow Cell SP génère entre 650 et 800 millions de lectures uniques passant le filtre avec un rendement jusqu'à 250 Go à 2 x 150 bp et un rendement jusqu'à 400 Go à 2 x 250 bp.
Composants de trousse S1	S1	Une Flow Cell S1 génère jusqu'à 1,6 milliard de lectures uniques passant le filtre avec un rendement jusqu'à 500 Go à 2 x 150 bp. La trousse S1 permet de réaliser un séquençage rapide pour la plupart des applications à débit élevé.

Mode de la trousse	Marquage sur l'étiquette	Description
Composants de trousse S2	S2	Une Flow Cell S2 génère jusqu'à 4,1 milliards de lectures uniques passant le filtre avec un rendement jusqu'à 1 250 Go à 2 x 150 bp. Il s'agit d'une version à deux lignes de la Flow Cell. La Flow Cell S2 permet la réalisation d'un séquençage rapide pour la plupart des applications à débit élevé, avec un plus grand nombre de lectures qu'une Flow Cell S1 pour un rendement de séquençage accru.
Composants de trousse S4	S4	Une Flow Cell S4 génère jusqu'à 10 milliards de lectures uniques passant le filtre avec un rendement jusqu'à 3 000 Go à 2 x 150 bp. Il s'agit d'une version à quatre lignes de la Flow Cell conçue pour un rendement maximal. Elle permet un séquençage rentable du génome entier sur une gamme d'espèces et de profondeurs de couverture.

La page du produit NovaSeq 6000 Sequencing System sur le site Web d'Illumina fournit des spécifications détaillées pour chaque mode.

Composants de la trousse de réactif

Chaque trousse de réactifs NovaSeq 6000 contient les composants suivants. Chaque composant utilise l'identification par radiofréquence (RFID) pour un suivi précis des consommables et pour des questions de compatibilité.

Lorsque vous recevez votre trousse, stockez rapidement ses composants à la température indiquée afin de garantir leurs performances.

Quantité	Composant de la trousse	Température de stockage
1	Tube de bibliothèques	15 °C à 30 °C
1	Flow Cell	2 °C à 8 °C
1	Cartouche de tampon	15 °C à 30 °C
1	Cluster cartridge	-25 °C à -15 °C
1	Cartouche SBS	-25 °C à -15 °C

Tableau 6	Composants	de trousse
-----------	------------	------------

Évitez de faire tomber les cartouches. Une chute peut provoquer des blessures. Une irritation cutanée peut se produire si les réactifs fuient des cartouches. Vérifier l'absence de fissures dans les cartouches avant de les utiliser.

Destiné à la recherche uniquement.

Tube de bibliothèques

Le tube de bibliothèques NovaSeq 6000 est un tube de 16 mm qui s'adapte à la position n° 8 de la cartouche d'amplification. La position n° 8 est étiquetée **Tube de bibliothèques** et entourée en orange pour une identification facile. Le tube est muni d'un bouchon fileté qui permet le stockage des bibliothèques si nécessaire. Assurez-vous que le capuchon a été retiré avant de le charger dans la cartouche d'amplification.

Figure 4 Tube de bibliothèques



Le tube de bibliothèques est utilisé de deux manières, selon le flux de travail :

- Standard : les bibliothèques regroupées et dénaturées sont ajoutées au tube de bibliothèque, qui est ensuite chargé sans bouchon dans la cartouche d'amplification. Après le début de la série, l'instrument mélange les bibliothèques avec les réactifs ExAmp dans le tube de bibliothèque, qui est ensuite transféré automatiquement à la FlowCell.
- NovaSeq Xp : le tube de bibliothèques vide et sans bouchon est chargé dans la cartouche d'amplification. Pendant la série, les réactifs sont mélangés dans le tube de bibliothèques avant d'être distribués à la Flow Cell.

Flow Cell

La Flow Cell NovaSeq 6000 est une Flow Cell structurée enchâssée dans une cartouche. La flow cell est un substrat en verre contenant des milliards de nanopuits disposés de manière ordonnée, ce qui augmente le nombre de lectures de sortie et de données de séquençage. Les amplifiats sont générés dans les nanopuits, dans lesquels le séquençage est effectué.

Chaque Flow Cell possède plusieurs lignes pour les bibliothèques regroupées de séquençage. La Flow Cell SP, S1 et S2 présente deux lignes chacune et la Flow Cell S4 en présente quatre. Chaque ligne est imagée en de multiples témoins. Le logiciel divise ensuite l'image de chaque témoin en portions plus petites, appelées plaques. Pour plus d'informations, consultez la section *Plaques de la Flow Cell* à la page 81.

i Si vous utilisez une Flow Cell S1, assurez-vous d'utiliser NVCS v1.3.1 ou une version ultérieure. Si vous utilisez une Flow Cell SP, assurez-vous d'utiliser NVCS v1.6 ou ultérieure.

Figure 5 Flow Cell



- A. Cartouche de Flow Cell
- B. Flow Cell à quatre lignes (S4)
- C. Flow Cell à deux lignes (SP, S1 et S2)

Le dessous de chaque Flow Cell présente quatre joints. Les bibliothèques et les réactifs entrent dans les lignes de la Flow Cell par les joints sur l'extrémité d'entrée de la Flow Cell. Les réactifs usagés sont expulsés des lignes par les joints sur l'extrémité de sortie.

i Évitez de toucher les joints lorsque vous manipulez une Flow Cell.

Figure 6 Flow Cell inversée



- A. Extrémité de sortie
- B. Extrémité d'entrée
- C. Joint (un sur quatre)

Cartouches tampon, d'amplification et SBS

La cartouche de tampon, la cartouche d'amplification et la cartouche SBS NovaSeq 6000 comportent des réservoirs scellés par des opercules en aluminium et préremplis de réactifs, de tampons ou de solution de lavage. Une cartouche de chaque type est incluse dans la trousse de réactif.

Les cartouches sont chargées directement dans l'instrument, ont un code de couleurs et portent une étiquette pour éviter les erreurs de chargement. Des guides situés dans les tiroirs du réfrigérant pour réactifs et de tampons assurent la bonne orientation des cartouches.

L'étiquette d'une cartouche inclut les modes pris en charge, tels que S1/S2 ou SP/S1/S2. Les cartouches ne peuvent être utilisées que pour les modes répertoriés sur l'étiquette.

Tableau 7 C	Cartouches	de	réactifs
-------------	------------	----	----------

Cartouche	Description
Cartouche de tampon NovaSeq 6000	Cartouche préremplie de tampons de séquençage et pouvant peser jusqu'à 6,8 kg (15 lbs). Une poignée de plastique facilite le transport, le chargement et le déchargement de la cartouche. Les indentations de la plaque supérieure permettent d'empiler les cartouches.
Cartouche d'amplification NovaSeq 6000	Cartouche préremplie avec des réactifs de génération d'amplifiats, des réactifs d'indexage, des réactifs apparies et une solution de lavage. Comprend une position désignée pour le tube de bibliothèques. Son étiquette orange distingue la cartouche d'amplification de la cartouche SBS.
NovaSeq 6000 Cartouche SBS	Cartouche préremplie avec des réactifs de séquençage dont le volume est fonction du nombre de cycles prévu pour la trousse (500, 300, 200, 100, or 35). Pour chacune destrois positions des réactifs, une position adjacente est réservée au lavage automatique après analyse. L'étiquette grise distingue la cartouche SBS de la cartouche d'amplification.

Réservoirs pour cartouches d'amplification

Réservoir amovible

En position n° 30, le réactif de dénaturation contient du formamide, un amide organique et une toxine reproductive. Pour faciliter l'élimination sûre de tout réactif non utilisé après la série de séquençage, ce réservoir est amovible.

i Ne pas empiler la cartouche SBS au-dessus de la cartouche d'amplification, ce qui pourrait désengager la position n° 30.

Document n° 100000019358 v18 Destiné à la recherche uniquement.

Réservoirs réservés

Trois réservoirs sont réservés pour les primers personnalisés et une position vide est réservée pour le tube de bibliothèques. Pour des raisons de traçabilité des échantillons, le tube de bibliothèques est chargé dans la cartouche d'amplification au moment de la configuration de l'analyse et reste dans la cartouche jusqu'à la fin de l'analyse.

Figure 7 Réservoirs numérotés

📥 INS			
2	3	4	
6		8	
10	1	12	
(14)	(15)	(16)	
18	(19)	20	
2	23	24)	
26	27	28	
30	31)	32	
Detach after use			
		(I) SEET	

Position	Réservé pour
5, 6 et 7	Primers personnalisés facultatifs
8	Tube de bibliothèques

Consultez la section *Guide des primers personnalisés de NovaSeq Series (document n° 100000022266)* pour de plus amples informations sur les primers personnalisés.

Composants de la trousse NovaSeq Xp

Chaque trousse NovaSeq Xp est à usage unique et contient les composants suivants. Lorsque vous recevez votre trousse, stockez rapidement ses composants à la température indiquée afin de garantir leurs performances.



Quantité	Composant de la trousse	Température de stockage
1	DPX1/JPX1	-25 °C à -15 °C
1	DPX2/JPX2	-25 °C à -15 °C
1	DPX3	-25 °C à -15 °C
1	Collecteur NovaSeq Xp	Emportez la trousse avec vous ou conservez-le à température ambiante.

Tableau 8 Composants de la trousse NovaSeq Xp

Réactifs de la trousse Xp

DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 et DPX3 sont des réactifs ExAmp fournis dans des tubes individuels pour le flux de travail NovaSeq Xp. La combinaison de ces réactifs crée le mélange réactionnel ExAmp qui est mélangé aux pools de bibliothèques avant le chargement dans la Flow Cell.

Collecteur NovaSeq Xp

Le collecteur NovaSeq Xp est placé sur la station de la Flow Cell NovaSeq Xp pour permettre le chargement direct des groupes de bibliothèques dans les lignes individuelles de la Flow Cell. Les bras de chaque côté du collecteur NovaSeq Xp sont conçus pour un placement facile sur la station.

Les collecteurs NovaSeq Xp sont fournis dans des configurations à deux et quatre puits pour correspondre aux Flow Cell à deux et quatre lignes. Chaque puits correspond à une ligne de Flow Cell. Étant donné que la Flow Cell est chargée dans la station NovaSeq Xp Flow Cell Dock à l'envers, les puits sont numérotés de droite à gauche pour correspondre à la numérotation de ligne d'une Flow Cell inversée.

Figure 8 Collecteurs NovaSeq Xp avec puits numérotés



NovaSeq Xp Flow Cell Dock

La station de la Flow Cell NovaSeq Xp est un accessoire réutilisable pour le chargement des bibliothèques directement sur une Flow Cell. La Flow Cell est inversée et chargée dans la station, et le collecteur NovaSeq Xp est installé sur la Flow Cell.

Deux porte-à-faux (sous le support) et deux ressorts guident l'insertion de la Flow Cell et assurent une orientation correcte. Les découpes maintiennent les bras du collecteur NovaSeq Xp dans la bonne orientation et sont placées uniformément. Une pince magnétique tourne à 180° pour fixer le collecteur NovaSeq Xp sur la Flow Cell.

Figure 9 NovaSeq Xp Flow Cell Dock



- A. Porte-à-faux (sous le support) pour guider le chargement
- B. Ressorts pour aligner la Flow Cell
- C. Découpes pour maintenir les bras du collecteur NovaSeq Xp
- D. Fixez la Flow Cell et le collecteur NovaSeq Xp à l'aide de la pince

Consommables et équipement fournis par l'utilisateur

Les consommables et équipements suivants fournis par l'utilisateur sont utilisés pour la préparation des consommables, le séquençage et la maintenance du système.

Consommables

Consommable	Fournisseur	Utilisation
1 N NaOH	Fournisseur de laboratoire général	Dilution à 0,2 N pour les bibliothèques de dénaturation.
Flacon pour centrifugeuse, 500 ml	Fournisseur de laboratoire général	Dilution de Tween 20 pour un lavage de maintenance.
Tube pour centrifugeuse, 30 ml	Fournisseur de laboratoire général	Dilution de NaOCI pour un lavage de maintenance.
Gants jetables sans talc	Fournisseur de laboratoire général	Usage général.

Destiné à la recherche uniquement.

Consommable	Fournisseur	Utilisation
Lingettes imbibées d'alcool isopropylique à 70 % ou Lingettes imbibées d'alcool à l'éthanol à 70 %	VWR, nº de référence 95041- 714, ou équivalent Fournisseur de laboratoire général	Nettoyage des composants avant l'analyse et usage général.
Serviette de laboratoire, non- pelucheuse	VWR, nº de référence 21905- 026, ou équivalent	Séchage de la platine de Flow Cell et usage général.
Tube de microcentrifugeuse, 1,5 ml	VWR, référence 20170-038, ou équivalent	Combinaison des volumes lors de la dilution de NaOH et de la bibliothèque.
NaOCI de qualité « réactif », 5 %	Sigma-Aldrich, nº de référence 239305	Effectuer un lavage de maintenance.
Trousse de réactifs NovaSeq 6000 Reagent	Illumina, consultez <i>Présentation des trousses</i> à la page 14.	Exécution d'une série de séquençage.
Embouts de pipette, 20 µl	Fournisseur de laboratoire général	Pipetage pour la dilution et le chargement des bibliothèques.
Embouts de pipette, 200 µl	Fournisseur de laboratoire général	Pipetage pour la dilution et le chargement des bibliothèques.
Embouts de pipette, 1 000 µl	Fournisseur de laboratoire général	Pipetage pour la dilution et le chargement des bibliothèques.
Alcool isopropylique (99%) de qualité réactif ou spectrophotométrique, flacon de 100 ml	Fournisseur de laboratoire général	Nettoyage périodique des composants optiques et support de la cartouche de nettoyage de l'objectif.
Tris-HCl, pH 7,0	Fournisseur de laboratoire général	Neutralisation des bibliothèques dénaturées.
Tween 20	Sigma-Aldrich, nº de référence P7949	Effectuer un lavage de maintenance.

Consommable	Fournisseur	Utilisation
Eau, usage en laboratoire	Fournisseur de laboratoire général	Dilution de NaOH pour les bibliothèques de dénaturation. Dilution de Tween 20 et d'hypochlorite de sodium pour les lavages de maintenance.
 [NovaSeq Xp flux de travail] L'une des trousses suivantes : Trousse à 2 lignes NovaSeq Xp Trousse à 4 lignes NovaSeq Xp 	Illumina: • N° de référence 20021664 • N° de référence 20021665	 Chargement manuel des bibliothèques sur une Flow Cell : Trousse à deux lignes pour Flow Cell SP, S1 et S2 Trousse à quatre lignes pour Flow Cell S4
 [NovaSeq Xp flux de travail] L'une des trousses suivantes : Trousse v1.5 à deux lignes NovaSeq Xp Trousse v1.5 à quatre lignes NovaSeq Xp 	Illumina: • N° de référence 20043130 • N° de référence 20043131	 Chargement manuel des bibliothèques sur une Flow Cell : Trousse à deux lignes pour Flow Cell SP, S1 et S2 Trousse à quatre lignes pour Flow Cell S4
[NovaSeq Xp workflow] tubes de 0,5 ml et 1,7 ml	Fournisseur de laboratoire général	Requis pour le mélange ExAmp.
 [NovaSeq Xp workflow] [Facultatif] L'un des lots de collecteurs suivants : Lot de collecteurs à 2 lignes NovaSeq Xp Lot de collecteurs à 4 lignes NovaSeq Xp 	Illumina: • N° de référence 20021666 • N° de référence 20021667	Collecteurs NovaSeq Xp de rechange pour le chargement manuel des bibliothèques sur une Flow Cell.
[Facultatif] PhiX Control v3	Illumina, n° de référence FC- 110-3001	Impulsion dans le contrôle PhiX.

Consommables dans les trousses Illumina

Une Trousse de réactifs NovaSeq 6000 Reagent est nécessaire pour séquencer une Flow Cell. Chaque trousse est composée de plusieurs consommables, répertoriés dans le tableau suivant. Pour une série à double Flow Cell, utilisez deux trousses.

Consommable (un de chaque)	Utilisation
Cartouche de tampon	Fournit des tampons de séquençage pour la série.
Cluster cartridge	Fournit des réactifs d'amplification, d'indexation et d'extrémité appariée pour la série.
Flow Cell	La réaction d'amplification et de séquençage se produit sur la Flow Cell.
Cartouche SBS	Fournit les réactifs de séquençage pour la série.
Tube de bibliothèques	Tube vide utilisé pour contenir des bibliothèques regroupées et dénaturées fournies par le client ou pour préparer le mélange de conditionnement afin d'augmenter l'efficacité de l'amplification pour le séquençage.

Tableau 9 Consommables dans une Trousse de réactifs NovaSeq 6000 Reagent

Si vous suivez le flux de travail NovaSeq Xp pour charger les bibliothèques directement dans la Flow Cell, complétez chaque trousse de réactif avec une trousse NovaSeq Xp. Chaque trousse NovaSeq Xp est composée des consommables suivants.

 Les consommables DPX1 et DPX2 peuvent être étiquetés JPX1 et JPX2. Les deux sont compatibles avec les kits de réactifs v1.0 ou v1.5. DPX3 est également compatible avec les kits de réactifs v1.0 et v1.5.

Tableau 10 Consommables dans une trousse NovaSeq Xp

Consommable (un de chaque)	Utilisation	
DPX1/JPX1	Préparation du mélange maître ExAmp.	
DPX2/JPX2		
DPX3	-	
Collecteur NovaSeq Xp	Chargement des bibliothèques sur la Flow Cell.	

Document nº 100000019358 v18

Destiné à la recherche uniquement.

Directives relatives à l'eau destinée à un usage en laboratoire

Toujours utiliser de l'eau destinée à un usage en laboratoire ou de l'eau désionisée pour effectuer les procédures relatives à l'instrument. Ne jamais utiliser l'eau du robinet. Utiliser uniquement les catégories d'eau suivantes ou leurs équivalents :

- Eau désionisée
- Illumina PW1
- Eau 18 mégohms (MΩ)
- Eau Milli-Q
- Eau Super-Q
- Eau destinée à un usage en biologie moléculaire

Équipement

Élément	Source
Congélateur, de -15 °C à -25 °C	Fournisseur de laboratoire général
Cylindre gradué, 500 ml, stérile	Fournisseur de laboratoire général
Seau d'eau glacée	Fournisseur de laboratoire général
Pipette, 20 µl	Fournisseur de laboratoire général
Pipette, 200 µl	Fournisseur de laboratoire général
Pipette, 1 000 µl	Fournisseur de laboratoire général
Réfrigérateur, de 2 °C à 8 °C	Fournisseur de laboratoire général
Cuve, bains d'eau*	Fournisseur de laboratoire général
[NovaSeq Xp workflow] station de la Flow Cell NovaSeq Xp	Illumina, n° de référence 20021663

* Utilisez une cuve pouvant accueillir deux cartouches de réactifs et le niveau d'eau approprié. Par exemple, une cuve de 61 cm x 91,4 cm x 25,4 cm (24 po × 36 po × 10 po).

Descriptions des symboles

Le tableau suivant explique les symboles présents sur les consommables ou leur emballage.

Symbole	Э	Description
\sum		La date de péremption du consommable. Pour de meilleurs résultats, utilisez le consommable avant cette date.

Symbole	Description
	Indique le fabricant (Illumina).
RUO	L'utilisation prévue est destinée à la recherche uniquement (RUO).
REF	Indique le numéro de référence afin que le consommable puisse être identifié. ¹
LOT	Indique le code de lot pour identifier le lot de fabrication du consommable. ¹
SN	Indique le numéro de série.
	Indique qu'une protection contre la lumière ou la chaleur est requise. À conserver à l'abri de la lumière du soleil.
	Présente un risque pour la santé.
	Indique un avertissement de danger.
	Plage de température de stockage en degrés Celsius. Conservez le consommable dans la plage indiquée.²

¹ REF identifie le composant individuel, tandis que LOT identifie le lot auquel le composant appartient.

² La température de stockage peut différer de la température d'expédition.

Destiné à la recherche uniquement.

Configuration du système

La première fois que le système est allumé, le Logiciel de commande NovaSeq est lancé avec une série d'écrans pour vous guider dans la configuration initiale. La première configuration comprend l'exécution d'une vérification du système pour confirmer les performances de l'instrument et la configuration des paramètres du système.

Si vous souhaitez modifier les paramètres système après la première configuration, sélectionnez la commande System Settings (Paramètres système) dans le logiciel de contrôle. La commande ouvre les onglets Settings (Paramètres), Network Access (Accès réseau) et Customization (Personnalisation), où vous pouvez accéder à tous les paramètres du logiciel de contrôle et aux paramètres du réseau Windows.

Comptes du système d'exploitation

Pour obtenir des informations sur les comptes et les mots de passe du système d'exploitation, consultez la section *Exigences relatives au mot de passe* à la page 89 et *Sécurité et mise en réseau*.

Analyses de validation

Vous pouvez éventuellement effectuer une analyse de validation avant de séquencer les bibliothèques expérimentales pour la première fois. Une analyse de validation séquence 100 % de PhiX, qui fonctionne comme une bibliothèque de contrôle, pour confirmer le fonctionnement du système. Pour obtenir des instructions, consultez la section *Séquençage* à la page 55 (Séquençage).

Démarrer l'instrument

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

Figure 10 Emplacement du commutateur d'alimentation



2. Attendez que le bouton d'alimentation situé sur le côté droit de l'instrument s'allume en bleu, puis appuyez dessus.



Figure 11 Emplacement du bouton d'alimentation

Comptes utilisateur

Dans NVCS v1.5 et les versions plus récentes, il existe deux types de comptes : administrateur et utilisateur. Les autorisations pour chaque type sont présentées dans le tableau suivant.

Autorisations	Administrateur	Utilisateur
Configurer, démarrer, surveiller les séries de séquençage	Х	Х
Télécharger et mettre à jour les logiciels	Х	
Afficher le statut d'analyses en cours démarrées par un autre utilisateur	Х	
Terminer un processus UCS qui ne répond pas	Х	

Les fichiers de données d'application sont stockés dans C:/ProgramData. Les applications sont installées dans C:/Program Files. Le NVCS est lancé en tant qu'application plein écran pour les deux types de comptes.

Se connecter au système

- 1. Lorsque le système d'exploitation est chargé, connectez-vous à Windows à l'aide du nom d'utilisateur et du mot de passe de votre site.
- 2. Ouvrez le NVCS.

Le logiciel est lancé et initialise le système. L'écran Home (Accueil) apparaît lorsque l'initialisation est terminée. Le NVCS est lancé en tant qu'application utilisateur. Si vous essayez d'utiliser une fonctionnalité qui nécessite des autorisations d'administrateur, comme la mise à jour du logiciel, et que vous n'êtes pas connecté en tant qu'administrateur, vous serez invité à vous connecter en tant qu'administrateur.

Destiné à la recherche uniquement.

Pour rester informé de la progression d'une série de séquençage, restez connecté pendant que le NVCS est en cours d'exécution et pendant qu'une série de séquençage est en cours.

Paramètres de configuration

Le NVCS comprend les paramètres pour les configurations suivantes :

- Mode Série (manuel ou basé sur un fichier)
- Flux de travail NovaSeq Xp
- Hébergement cloud (BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics)
- Mises à jour des logiciels
- i Avant de configurer la sélection du flux de travail ou les vérifications automatiques des mises à jour logicielles, assurez-vous que la sélection du mode a été configurée.

Exécuter les modes de configuration

- Manuel : mode par défaut qui envoie les données à un dossier de sortie spécifié pour une analyse ultérieure.
- **Basé sur un fichier** : mode qui utilise des fichiers provenant de BaseSpace Clarity LIMS ou d'un autre système LIMS pour définir les paramètres de la série. Pour plus d'informations, consultez la section *Configurer la sortie LIMS* à la page 32.
- Basé sur serveur : mode qui utilise une URL de serveur LIMS pour définir les paramètres de la série.

Lors de la configuration du mode de configuration des séries, assurez-vous d'indiquer un emplacement existant pour le dossier de configuration de la série. Ce dossier est obligatoire et un message d'emplacement non valide indique que l'emplacement spécifié n'existe pas.

Tous les modes de configuration de la série incluent l'option d'envoi de données vers BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics pour le stockage et l'analyse de données.

Configurer le mode manuel

- Dans le Main Menu (menu principal), sélectionnez Settings (Paramètres).
 L'écran Settings (Paramètres) s'ouvre sur l'onglet Mode Selection (Sélection du mode).
- 2. Sélectionnez Manuel.
- [Facultatif] Saisissez ou accédez à un emplacement réseau préféré pour le dossier de sortie. N'indiquez pas d'emplacement sur le lecteur C, D ou Z. Cela provoque une erreur de lecteur non valide.

Ce paramètre est l'emplacement par défaut. L'emplacement du dossier de sortie peut être modifié par série.

4. **[Facultatif]** Sélectionnez **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Envoyer les données de performance de l'instrument à Illumina) pour activer le service de surveillance proactive Illumina. Le nom du paramètre dans l'interface du logiciel peut être différent du nom dans ce guide, en fonction de la version du logiciel NVCS utilisée.

Lorsque ce paramètre est activé, les données de performance de l'instrument sont envoyées à Illumina. Ces données aident Illumina à dépanner plus facilement et à détecter les défaillances potentielles, ce qui permet une maintenance proactive et maximise la disponibilité des instruments. Pour en savoir plus sur les avantages de ce service, consultez la *note technique proactive d'Illumina (document n° 100000052503)*.

Ce service :

- n'envoie pas de données de séquençage ;
- nécessite que l'instrument soit connecté à un réseau avec accès à Internet ;
- Est activé par défaut. Pour choisir de ne pas utiliser ce service, désactivez le paramètre Send Instrument Performance Data to Illumina (Envoyer les données de performance de l'instrument à Illumina).
- 5. Sélectionnez Save (Sauvegarder).

Configurer le mode fondé sur des fichiers

- Dans le Main Menu (menu principal), sélectionnez Settings (Paramètres).
 L'écran Settings (Paramètres) s'ouvre sur l'onglet Mode Selection (Sélection du mode).
- 2. Sélectionnez File-Based (Fondé sur les fichiers).
- 3. Saisissez ou accédez à un emplacement réseau préféré pour le dossier de configuration de la série, qui contient des fichiers LIMS.

Assurez-vous que les fichiers LIMS appropriés sont ajoutés au dossier de configuration de la série avant de configurer une série. Pendant la configuration de la série, le logiciel utilise l'ID du tube de bibliothèques ou l'ID de la Flow Cell pour localiser les fichiers de la série en cours.

 [Facultatif] Saisissez ou accédez à un emplacement réseau préféré pour le dossier de sortie. N'indiquez pas d'emplacement sur le lecteur C, D ou Z. Cela provoque une erreur de lecteur non valide.

L'emplacement du dossier de sortie peut être modifié par série.

5. **[Facultatif]** Sélectionnez **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Envoyer les données de performance de l'instrument à Illumina) pour activer le service de surveillance proactive Illumina. Le nom du paramètre dans l'interface du logiciel peut être différent du nom dans ce guide, en fonction de la version du logiciel NVCS utilisée.

Lorsque ce paramètre est activé, les données de performance de l'instrument sont envoyées à Illumina. Ces données aident Illumina à dépanner plus facilement et à détecter les défaillances potentielles, ce qui permet une maintenance proactive et maximise la disponibilité des instruments. Pour en savoir plus sur les avantages de ce service, consultez la *note technique proactive d'Illumina (document n° 100000052503).*

Destiné à la recherche uniquement.
Ce service :

- n'envoie pas de données de séquençage ;
- nécessite que l'instrument soit connecté à un réseau avec accès à Internet ;
- Est activé par défaut. Pour choisir de ne pas utiliser ce service, désactivez le paramètre **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Envoyer les données de performance de l'instrument à Illumina).

Lorsque cette option est activée, elle nécessite une connexion Internet externe.

6. Sélectionnez Save (Sauvegarder).

Configurer la sortie LIMS

Si votre système est configuré en mode fondé sur des fichiers et que vous utilisez un logiciel LIMS autre que BaseSpace Clarity LIMS, configurez le LIMS pour générer un fichier de configuration de série au format JSON. Pour le flux de travail standard, le nom du fichier doit correspondre à l'ID du tube de bibliothèques. Le champ ID de la Flow Cell dans le fichier peut être laissé vide. Pour le flux de travail NovaSeq Xp, le nom du fichier doit correspondre à l'ID de la Flow Cell et l'ID de la bibliothèque doivent être spécifiés dans le fichier. Le nom et les valeurs du fichier ne sont pas sensibles à la casse.

Le logiciel LIMS externe peut utiliser l'API LIMS NovaSeq pour interagir avec le NovaSeq 6000. Contactez l'assistance technique Illumina pour plus d'informations sur les points de terminaison API ou le mode serveur LIMS.

Nom du champ	Valeur
run_name	Le nom de la série peut contenir des caractères alphanumériques, des tirets, des traits d'union et des caractères de soulignement
run_mode	L'un des modes suivants : • S1 • SP • S2 • S4
workflow_type	Nolndex, SingleIndex ou DualIndex
librarytube_ID	La RFID du tube de bibliothèques
sample_loading_type	NovaSeqStandard ou NovaSeq Xp
Flowcell_ID	L'ID de la Flow Cell
paired_end	Vrai ou faux
read1	Une valeur allant jusqu'à 251 (cycles supplémentaires de lectures UMI possibles iusqu'à 259)

Document n° 100000019358 v18

Destiné à la recherche uniquement.

Nom du champ	Valeur
read2	Une valeur allant jusqu'à 251 (cycles supplémentaires de lectures UMI possibles jusqu'à 259)
index_read1	Toute valeur
index_read2	Toute valeur
output_folder	Le chemin d'accès au dossier de sortie avec deux barres obliques inverses pour une séquence d'échappement
Feuille d'échantillon	Le chemin vers une feuille d'échantillon ou un autre fichier au format CSV (*.csv) avec deux barres obliques inverses pour une séquence d'échappement
use_basespace	Vrai ou faux
basespace_mode	RunMonitoringOnly ou RunMonitoringAndStorage
use_custom_read1_primer	Vrai ou faux
use_custom_read2_primer	Vrai ou faux
use_custom_index_read1_ primer	Vrai ou faux
use_custom_index_read2_ primer	Vrai ou faux

* La réhybridation n'est pas disponible dans NVCS version 1.4.0 ou antérieure.

Exemple de fichier JSON nommé 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 »: vrai,
« 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 » : faux,
« basespace mode » : null,
```

```
« use_custom_read1_primer » : faux,
« use_custom_read2_primer » : faux,
« use_custom_index_read1_primer » : faux
}
```

Configurer les cycles d'indexation par défaut

Vous pouvez configurer le nombre par défaut de cycles d'indexation pour le flux de travail Standard comme suit.

- Dans le Main Menu (menu principal), sélectionnez Settings (Paramètres).
 L'écran Settings (Paramètres) s'ouvre sur l'onglet Mode Selection (Sélection du mode).
- 2. Sélectionnez l'onglet Workflow Selection (Sélection du flux de travail).
- 3. Saisissez le nombre de cycles d'indexation par défaut dans le champ **Index Cycles** (Cycles d'indexation).
- 4. Sélectionnez Save (Sauvegarder).

Flux de travail NovaSeq Standard et NovaSeq Xp

Les flux de travail NovaSeq Standard et NovaSeq Xp utilisent tous deux une chimie ExAmp Illumina exclusive.

Flux de travail standard

Le flux de travail NovaSeq Standard automatise deux étapes cruciales de la chimie d'amplification ExAmp exclusive à Illumina intégrée à l'instrument.

- Préparation du mélange maître ExAmp
- Livraison du mélange maître dans la Flow Cell

La préparation et l'administration du mélange maître sur l'instrument limitent toute interaction de l'utilisateur et réduisent la variabilité du mélange préparé.

Dans le cadre de la configuration de la série pour le flux de travail Standard, un tube de bibliothèques contenant le groupe de bibliothèques dénaturées et neutralisées à la concentration recommandée est inséré dans la position n° 8 de la cartouche d'amplification. Pour plus d'informations les concentration recommandées, consultez le Générateur du protocole de dénaturation et de dilution. Après le lancement de l'analyse, les étapes suivantes sont effectuées dans l'instrument et ne nécessitent aucune interaction de l'utilisateur. Cela comprend le transfert des réactifs ExAmp de la cartouche d'amplification vers le tube de bibliothèques, la préparation des réactifs et du mélange de groupe de bibliothèques, et la distribution du mélange préparé à toutes les lignes de la Flow Cell.

Après l'amplification intégrée, une série d'étapes communes aux deux flux de travail est effectuée. Ces étapes comprennent l'application d'un mélange de conditionnement à la Flow Cell d'amplification et des étapes chimiques supplémentaires afin de préparer les amplifiats pour le séquençage par synthèse. Le mélange de conditionnement est préparé pendant le processus d'amplification à l'aide de réactifs dans la cartouche d'amplification et le tube de bibliothèques vide est inséré pendant la configuration de la série. Le mélange de conditionnement contribue à améliorer l'efficacité de l'amplification sur l'instrument NovaSeq 6000.

Flux de travail NovaSeq Xp

Le flux de travail NovaSeq Xp permet de charger différentes bibliothèques ou groupes de bibliothèques sur des lignes individuelles de la Flow Cell NovaSeq à l'aide de la station de la Flow Cell NovaSeq Xp et d'une trousse de consommables spécifique à la Flow Cell (trousse à 2 lignes NovaSeq Xp ou trousse à 4 lignes NovaSeq Xp). La trousse NovaSeq Xp contient les réactifs ExAmp nécessaires à l'amplification et le collecteur NovaSeq Xp nécessaire au chargement de la ligne.

Le mélange ExAmp/bibliothèque est préparé et chargé sur des lignes individuelles de la Flow Cell à l'aide de la station de la Flow Cell NovaSeq Xp et du collecteur NovaSeq Xp. Un manipulateur de liquide automatisé peut être utilisé pour la préparation du mélange ExAmp/bibliothèque et la distribution au collecteur pour l'auto-remplissage de la Flow Cell. Lorsque le chargement de l'échantillon de la Flow Cell est terminé, un tube de bibliothèques vide est inséré dans la position n° 8 de la cartouche d'amplification, la Flow Cell est placée sur l'instrument et le séquençage est lancé.

Une fois la série lancée, une série d'étapes communes aux deux flux de travail est effectuée. Ces étapes comprennent l'application d'un mélange de conditionnement à la Flow Cell d'amplification et des étapes chimiques supplémentaires afin de préparer les amplifiats pour le séquençage par synthèse. Le mélange de conditionnement est préparé pendant le processus d'amplification à l'aide de réactifs dans la cartouche d'amplification et mélange de conditionnement contribue à améliorer l'efficacité de l'amplification sur l'instrument NovaSeq 6000.

Configurer le flux de travail NovaSeq Xp

- Dans le Main Menu (menu principal), sélectionnez Settings (Paramètres).
 L'écran Settings (Paramètres) s'ouvre sur l'onglet Mode Selection (Sélection du mode).
- 2. Sélectionnez l'onglet Workflow Selection (Sélection du flux de travail).
- 3. Pour activer le flux de travail NovaSeq Xp, sélectionnez **Enable Workflow Selection** (Activer la sélection du flux de travail).
- 4. [Facultatif] Pour faire de NovaSeq Xp le flux de travail par défaut, sélectionnez NovaSeq Xp.
- 5. Sélectionnez Save (Sauvegarder).

Configurer les options du cloud

Suivez les instructions ci-dessous pour définir les paramètres par défaut de connexion au cloud. Pendant la configuration de la série, vous pouvez désactiver les options cloud pour la série en cours ou modifier les paramètres de surveillance et de stockage de la série. Se connecter à BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics nécessite une connexion Internet.

- Dans le Main Menu (menu principal), sélectionnez Settings (Paramètres).
 L'écran Settings (Paramètres) s'ouvre sur l'onglet Mode Selection (Sélection du mode).
- 2. Cochez la case Illumina Cloud Options (Options du cloud).
- 3. Pour la configuration, sélectionnez l'une des options suivantes :
 - **Run Monitoring and Storage** (Surveillance et stockage de la série) : envoie les données de la série à l'option d'hébergement cloud sélectionnée pour la surveillance à distance etl'analyse des données. Cette option nécessite le téléchargement d'une feuille d'échantillon avec la série.
 - **Run Monitoring Only** (Surveillance de la série uniquement) : envoie des fichiers InterOp, des journaux et d'autres fichiers de série non CBCL à BaseSpace Sequence Hub afin de permettre la surveillance à distance de la série.
- Dans le menu déroulant Hosting Location (Emplacement de l'hébergement), sélectionnez EU (Francfort) ou USA (Virginie du Nord).

Cette option détermine l'endroit où les données sont téléchargées.

- 5. Si vous avez souscrit un abonnement Entreprise pour BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics procédez comme suit.
 - a. Cochez la case **Private Domain** (Domaine privé).
 - b. Saisissez le nom de domaine utilisé pour une connexion unique à BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics.
- 6. Sélectionnez **Save** (Sauvegarder).

Nom de la feuille d'échantillon

Lors de l'exécution de NVCS la version 1.3.1 ou antérieure, une feuille d'échantillon utilisée pour une série et téléchargée vers BaseSpace Sequence Hub doit être nommée SampleSheet.csv (sensible à la casse). Si le nom de la feuille d'échantillon est incorrect et que l'option Run Monitoring and Storage (Surveillance et stockage de la série) est activée, BaseSpace Sequence Hub signale la série pour qu'elle fasse l'objet d'une attention particulière. Pour mettre en file d'attente une série marquée pour la génération FASTQ, sélectionnez **More** (Plus) > **Fix Sample Sheet and Requeue** (Corriger la feuille d'échantillon et Remettre en file d'attente), puis saisissez la feuille d'échantillon appropriée. Tant que la feuille d'échantillon n'est pas fournie, les données de séquençage ne peuvent pas être converties en fichiers FASTQ.

Si vous exécutez NVCS v1.4 ou une version ultérieure, il n'y a pas de limitations sur les noms des feuilles d'échantillon.

Si vous utilisez le logiciel de conversion bcl2fastq2 v2.19, ou une version ultérieure, pour convertir les données en fichiers FASTQ localement, vous pouvez utiliser l'option de ligne de commande --samplesheet pour indiquer n'importe quel fichier CSV à n'importe quel emplacement. La ligne de commande permet d'utiliser n'importe quel nom de fichier.

Configurer les mises à jour logicielles

La vérification automatique des mises à jour logicielles est activée par défaut. Vous pouvez désactiver ou activer la vérification automatique des mises à jour dans Settings (Paramètres).

- 1. Dans le Main Menu (menu principal), sélectionnez Settings (Paramètres).
- 2. Sélectionnez Software Update (Mise à jour du logiciel).
- 3. Cochez la case **If enabled**, **the instrument will display a notification when a Software Update is available** (Si cette option est activée, l'instrument affichera une notification lorsqu'une mise à jour logicielle est disponible).
- 4. Sélectionnez Save (Sauvegarder).

Flux de travail standard : Préparation des consommables

Bonnes pratiques

- Assurez-vous d'avoir les consommables et l'équipement nécessaires. Consultez *Consommables et équipement fournis par l'utilisateur* à la page 22.
- Toujours vérifier l'étiquette lors de la préparation des consommables pour s'assurer de la compatibilité entre les composants. Ne pas mélanger et apparier les composants SP, S1, S2 et S4.
- Ne pas mélanger les versions de trousse de réactif.
 - Les cartouches SBS et CPE v1.0 ne doivent être appairées qu'entre elles.
 - Les cartouches SBS et CPE v1.5 ne doivent être appairées qu'entre elles.
- Lors du retrait de la cartouche SBS de son emballage, l'inspecter visuellement pour détecter les fissures éventuelles.
- Suivez les instructions dans l'ordre indiqué, en utilisant les volumes, les concentrations, les températures et les durées spécifiés.
- À moins qu'un point d'arrêt ne soit spécifié dans les instructions, passez immédiatement à l'étape suivante.

Décongeler la cartouche SBS et la cartouche d'amplification

- 1. Si une série de séquençage est en cours, assurez-vous que les deux côtés de l'instrument seront disponibles une fois les réactifs décongelés.
- 2. Retirez la cartouche SBS et la cartouche d'amplification de leur lieu de stockage maintenu entre -25 °C et -15 °C.

Destiné à la recherche uniquement.

 Placez chaque cartouche dans le support de décongélation en broche.
 Les supports sont fournis avec l'instrument et empêchent les cartouches de chavirer dans le bain d'eau.

Figure 12 Cartouches dans les supports de décongélation en broche



- Décongeler dans un bain d'eau à température ambiante (19 °C à 25 °C). Immergez jusqu'à la moitié environ.
- 5. Utilisez le tableau ci-dessous pour déterminer la durée de décongélation.

Utiliser de l'eau chaude pour décongeler les réactifs peut réduire la qualité des données ou causer un échec de la série.

Cartouche	Durée de décongélation
Cartouche SP, S1 et S2 SBS	4 heures
Cartouche d'amplification SP, S1 et S2	Jusqu'à 2 heures
Cartouche SBS S4	4 heures
Cartouche d'amplification S4	Jusqu'à 4 heures

- 6. Séchez bien la base des cartouches avec des essuie-tout. Épongez entre les puits pour que toute l'eau soit enlevée.
- 7. Vérifiez la présence d'eau sur les opercules en aluminium. S'il y de l'eau, épongez-la avec un tissu non pelucheux.
- 8. Vérifiez le dessous de chaque cartouche pour vous assurer qu'il n'y a pas de glace dans les réservoirs, ce qui indique que les réactifs sont décongelés.
- 9. Retournez chaque cartouche 10 fois pour mélanger les réactifs.
- 10. Tapotez doucement le fond de chaque cartouche sur la paillasse pour réduire les bulles d'air.
- Si les réactifs ne peuvent pas être chargés dans l'instrument dans les 4 heures, conservez-les entre 2 °C et 8 °C pendant 24 heures maximum ou restockez-les dans entre -25 °C to -15 °C. Après décongélation, ne pas recongeler plus d'une fois.

Vider les flacons de réactifs usagés

Suivez les instructions ci-dessous pour vider les flacons de réactifs usagés à *chaque* série de séquençage. Le grand flacon doit rester en place.

- Cet ensemble de réactifs contient des produits chimiques potentiellement dangereux. Des dommages corporels peuvent survenir en cas d'inhalation, d'ingestion, de contact avec la peau ou les yeux. La ventilation doit être appropriée pour la manipulation de matières dangereuses dans les réactifs. Porter un équipement de protection, y compris des lunettes de protection, des gants et une blouse de laboratoire adaptés au risque d'exposition. Manipuler les réactifs usagés comme des déchets chimiques et les mettre au rebut conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur. Pour de plus amples informations relatives à l'environnement, à la santé et à la sécurité, consultez la SDS à l'adresse support.illumina.com/sds.html.
- 1. Retirez et videz le petit flacon de réactifs usagés, comme suit.
 - a. Soulevez le levier et retirez le petit flacon de réactifs usagés du renfoncement. Tenez le flacon par les côtés.
 - b. Retirez le bouchon fileté du porte-bouchon situé sur le devant du flacon.
 - c. Fermez hermétiquement le flacon à l'aide du bouchon pour prévenir les déversements.
 - d. Jetez le contenu conformément aux normes en vigueur, en le gardant séparé du contenu de l'autre flacon.
 - e. Remettez le flacon débouché dans le renfoncement, puis abaissez le levier. Placez le bouchon sur le porte-bouchon.
- 2. Retirez et videz le grand flacon de réactifs usagés, comme suit.
 - a. À l'aide de la poignée du dessus, retirez le grand flacon de réactifs usagés du côté gauche du tiroir de tampon.
 - b. Retirez le bouchon fileté du porte-bouchon situé sur le devant du flacon.
 - c. Fermez hermétiquement le flacon à l'aide du bouchon pour prévenir les déversements.
 - d. Jetez le contenu conformément aux normesen vigueur dans votre région. Tenez les deux poignées durant la vidange.
 - e. Remettez le flacon débouché dans le tiroir de tampon. Placez le bouchon sur le porte-bouchon.

Destiné à la recherche uniquement.

Figure 13 Remise en place du flacon vide



- 3. Enfilez une nouvelle paire de gants sans talc.
- 4. Fermez le tiroir de tampon, puis fermez les portes du compartiment des liquides.



Préparer la Flow Cell

- 1. Sortez un nouvel emballage de Flow Cell du lieu de stockage à une température maintenue entre 2 et 8 °C.
- Placez la Flow Cell emballée et scellée de côté à température ambiante pendant 10-15 minutes. Utilisez la Flow Cell dans les 12 heures après avoir l'avoir retirée de son emballage.

Grouper et dénaturer les bibliothèques pour le séquençage

La concentration de charge peut varier en fonction des méthodes de préparation, de quantification et de normalisation de la bibliothèque. Pour les instructions, consultez la section Générateur du protocole de dénaturation et de dilution. Une fois que votre bibliothèque groupée est prête, passez à la section *Préparation des cartouches SBS et d'amplification* à la page 42.



Préparation des cartouches SBS et d'amplification

- 1. Vérifiez le dessous de chaque cartouche pour vous assurer qu'il n'y a pas de glace dans les réservoirs, ce qui indique que les réactifs sont décongelés.
- 2. Retournez chaque cartouche 10 fois pour mélanger les réactifs.
- 3. Tapotez doucement le fond de chaque cartouche sur la paillasse pour réduire les bulles d'air.

Préparer les primers personnalisés

Si votre bibliothèque nécessite des amorces personnalisées, préparez-les en suivant les instructions de la *Guide des primers personnalisés de NovaSeq Series (document n° 100000022266)*.

Charger le tube de bibliothèques

- Sans déranger la bibliothèque dans la partie inférieure, insérez le tube de bibliothèques sans bouchon contenant le groupe de bibliothèques dénaturées et diluées dans la position du tube de bibliothèques (n° 8) de la cartouche d'amplification.
- 2. Insérez le tube de bibliothèques dans la position n° 8 de la cartouche d'amplification.

Figure 14 Tube de bibliothèques sans bouchon chargé dans la position nº 8



Flux de travail NovaSeq Xp : Préparation des consommables

Résumé du flux de travail NovaSeq Xp

Avant de commencer la préparation des échantillons ou des consommables, assurez-vous que la version NVCS répond aux exigences minimales du logiciel indiquées dans le tableau suivant.

Flow Cell	Version logicielle minimale de la trousse de réactifs v1.0	Version logicielle minimale de la trousse de réactifs v1.5
SP	1.6	1.7
S1	1.3.1	1.7
S2	Toutes	1.7
S4	1.2.0	1.7

Tableau 11 Configuration logicielle minimale reguise

i Le NVCS prend en charge le démarrage échelonné de nouvelles séries. Consulter la section Démarrage échelonné d'analyses à la page 65.

Assurez-vous d'effectuer toutes les étapes du flux de travail NovaSeq Xp, dans l'ordre spécifié.

- 📋 📔 Les étapes 1 à 4 peuvent être réalisées en parallèle et doivent être réalisées avant de passer à l'étape 5.
- 1. Décongelez les cartouches SBS et d'amplification.
- 2. Vider les flacons de réactifs usagés.
- 3. Mettez l'emballage scellé de la Flow Cell de côté pendant 10 à 15 minutes pour permettre à la Flow Cell d'atteindre la température ambiante. Utilisez la Flow Cell dans les 12 heures après avoir l'avoir retirée de son emballage.
- 4. Normalisez et regroupez les bibliothègues et ajoutez éventuellement le contrôle PhiX selon le protocole approprié pour vos bibliothèques figurant dans la section Générateur du protocoles de dénaturation et de dilution.



Effectuez les étapes 5 à 11 dans l'ordre spécifié.

- 5. Décongeler les réactifs ExAmp.
- 6. Préparer une nouvelle dilution de NaOH conformément à la section Générateur du protocole de dénaturation et de dilution.

Document n° 100000019358 v18

Destiné à la recherche uniquement.

- 7. Dénaturez et neutralisez le groupe de bibliothèques conformément à la section Générateur du protocole de dénaturation et de dilution.
- 8. Préparez la Flow Cell et la station.
- 9. Préparez le mélange maître ExAmp.
- 10. Chargez le mélange ExAmp/bibliothèque sur la Flow Cell.
- 11. Chargez un tube de bibliothèques vide dans la position n° 8 de la cartouche d'amplification.

Méthodes

- Assurez-vous d'avoir les consommables et l'équipement nécessaires. Consultez *Consommables et équipement fournis par l'utilisateur* à la page 22.
- Assurez-vous que l'instrument est allumé et qu'il dispose d'un espace de stockage suffisant pour la série. Consultez la section *Gestion du processus* à la page 11.
- Assurez-vous que le lavage automatique post-analyse des deux côtés de l'instrument est terminé avant de commencer l'étape Décongélation des réactifs ExAmp du Résumé du flux de travail NovaSeq Xp à la page 43.
- Toujours vérifier l'étiquette lors de la préparation des consommables pour s'assurer de la compatibilité entre les composants. Ne pas mélanger les composants SP, S1, S2 et S4 ou les composants à deux ou quatre lignes, d'un côté de l'instrument.
- Ne pas mélanger les versions de trousse de réactif.
 - Les cartouches SBS et CPE v1.0 ne doivent être appairées qu'entre elles.
 - Les cartouches SBS et CPE v1.5 ne doivent être appairées qu'entre elles.
- Lors du retrait de la cartouche SBS de son emballage, l'inspecter visuellement pour détecter les fissures éventuelles.
- Suivez les instructions dans l'ordre indiqué, en utilisant les volumes, les températures et les durées spécifiés.
- Lorsque vous ne mélangez pas activement, placez tous les réactifs et les bibliothèques sur de la glace.
- À moins qu'un point d'arrêt ne soit spécifié dans les instructions, passez immédiatement à l'étape suivante.
- Pour démarrer avec succès le séquençage d'une Flow Cell à deux lignes, les deux lignes doivent être remplies. Pour démarrer avec succès le séquençage d'une Flow Cell à quatre lignes, une ligne peut être partiellement remplie ou vide.
- Les causes les plus fréquentes de variations des résultats lors du mélange manuel des réactifs ExAmp sont une distribution inexacte des volumes de composants ExAmp et un mélange insuffisant. Ne pas sous-mélanger.

i Démarrer le séquençage immédiatement après le chargement des bibliothèques dans la Flow Cell, de préférence dans les 30 minutes.

Décongeler la cartouche SBS et la cartouche d'amplification

- 1. Si une série de séquençage est en cours, assurez-vous que les deux côtés de l'instrument seront disponibles une fois les réactifs décongelés.
- 2. Retirez la cartouche SBS et la cartouche d'amplification de leur lieu de stockage maintenu entre -25 °C et -15 °C.
- Placez chaque cartouche dans le support de décongélation en broche.
 Les supports sont fournis avec l'instrument et empêchent les cartouches de chavirer dans le bain d'eau.

Figure 15 Cartouches dans les supports de décongélation en broche



- Décongeler dans un bain d'eau à température ambiante (19 °C à 25 °C). Immergez jusqu'à la moitié environ.
- 5. Utilisez le tableau ci-dessous pour déterminer la durée de décongélation.
 - Utiliser de l'eau chaude pour décongeler les réactifs peut réduire la qualité des données ou causer un échec de la série.

Cartouche	Durée de décongélation
Cartouche SP, S1 et S2 SBS	4 heures
Cartouche d'amplification SP, S1 et S2	Jusqu'à 2 heures
Cartouche SBS S4	4 heures
Cartouche d'amplification S4	Jusqu'à 4 heures

6. Séchez bien la base des cartouches avec des essuie-tout. Épongez entre les puits pour que toute l'eau soit enlevée.

- 7. Vérifiez la présence d'eau sur les opercules en aluminium. S'il y de l'eau, épongez-la avec un tissu non pelucheux.
- 8. Vérifiez le dessous de chaque cartouche pour vous assurer qu'il n'y a pas de glace dans les réservoirs, ce qui indique que les réactifs sont décongelés.
- 9. Retournez chaque cartouche 10 fois pour mélanger les réactifs.
- 10. Tapotez doucement le fond de chaque cartouche sur la paillasse pour réduire les bulles d'air.
- 11. Si les réactifs ne peuvent pas être chargés dans l'instrument dans les 4 heures, conservez-les entre 2 °C et 8 °C pendant 24 heures maximum ou restockez-les dans entre -25 °C to -15 °C. Après décongélation, ne pas recongeler plus d'une fois.

Vider les flacons de réactifs usagés

Suivez les instructions ci-dessous pour vider les flacons de réactifs usagés à *chaque* série de séquençage. Le grand flacon doit rester en place.

- Cet ensemble de réactifs contient des produits chimiques potentiellement dangereux. Des dommages corporels peuvent survenir en cas d'inhalation, d'ingestion, de contact avec la peau ou les yeux. La ventilation doit être appropriée pour la manipulation de matières dangereuses dans les réactifs. Porter un équipement de protection, y compris des lunettes de protection, des gants et une blouse de laboratoire adaptés au risque d'exposition. Manipuler les réactifs usagés comme des déchets chimiques et les mettre au rebut conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur. Pour de plus amples informations relatives à l'environnement, à la santé et à la sécurité, consultez la SDS à l'adresse support.illumina.com/sds.html.
- 1. Retirez et videz le petit flacon de réactifs usagés, comme suit.
 - a. Soulevez le levier et retirez le petit flacon de réactifs usagés du renfoncement. Tenez le flacon par les côtés.
 - b. Retirez le bouchon fileté du porte-bouchon situé sur le devant du flacon.
 - c. Fermez hermétiquement le flacon à l'aide du bouchon pour prévenir les déversements.
 - d. Jetez le contenu conformément aux normes en vigueur, en le gardant séparé du contenu de l'autre flacon.
 - e. Remettez le flacon débouché dans le renfoncement, puis abaissez le levier. Placez le bouchon sur le porte-bouchon.
- 2. Retirez et videz le grand flacon de réactifs usagés, comme suit.
 - a. À l'aide de la poignée du dessus, retirez le grand flacon de réactifs usagés du côté gauche du tiroir de tampon.
 - b. Retirez le bouchon fileté du porte-bouchon situé sur le devant du flacon.
 - c. Fermez hermétiquement le flacon à l'aide du bouchon pour prévenir les déversements.

- d. Jetez le contenu conformément aux normesen vigueur dans votre région. Tenez les deux poignées durant la vidange.
- e. Remettez le flacon débouché dans le tiroir de tampon. Placez le bouchon sur le porte-bouchon.

Figure 16 Remise en place du flacon vide



- 3. Enfilez une nouvelle paire de gants sans talc.
- 4. Fermez le tiroir de tampon, puis fermez les portes du compartiment des liquides.

Le fait de ne pas vider les flacons de réactifs usagés peut entraîner un arrêt de l'analyse et un débordement qui endommage l'instrument et constitue un risque pour la sécurité.

Préparation de la Flow Cell et de la station

- 1. Sortez un nouvel emballage de Flow Cell du lieu de stockage à une température maintenue entre 2 et 8 °C.
- Placez la Flow Cell emballée et scellée de côté à température ambiante pendant 10-15 minutes. Utilisez la Flow Cell dans les 12 heures après avoir l'avoir retirée de son emballage.
- 3. Placez la station de la Flow Cell sur une surface plane.
- 4. Inspectez la station et assurez-vous qu'elle est exempte de particules.

Décongeler les réactifs ExAmp

- 1. Retirer un tube de chaque réactif DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 et DPX3 de leur emplacement de stockage de -25 °C à -15 °C.
- 2. Décongelez-le à température ambiante pendant 10 minutes.
- 3. Mettez de côté sur de la glace.

Document n° 100000019358 v18

Destiné à la recherche uniquement.

Si vous devez recongeler des réactifs ExAmp non ouverts, faites-le immédiatement après la décongélation. Les réactifs ExAmp ne peuvent être recongelés qu'une seule fois. Les réactifs résiduels ne peuvent pas être congelés ou combinés.

Vérifiez la pression de vide de la Flow Cell

Vérifiez le vide de la Flow Cell comme suit.

- 1. Dans le Main Menu (menu principal), sélectionnez **Tools** (Outils).
- 2. Sélectionnez Flow Cell Vacuum (Vide de la Flow Cell).
- Sélectionnez le ou les côtés concernés sur lesquels la ou les Flow Cell seront chargées (côté A, côté B ou les deux).
- 4. Sélectionnez Open (Ouvrir).

L'état de pression de vide affiche Fail (Échec) sur les côtés A et B lors de la première ouverture de l'outil de vide de la Flow Cell. Cela est normal lorsqu'une Flow Cell n'est pas présente ou lorsqu'une Flow Cell est chargée avant l'outil de vide de la Flow Cell.

- 5. Prélevez un nouveau lot de Flow Cell du stockage entre 2 °C et 8 °C et décongele-le à température ambiante pendant 10 à 15 minutes.
- 6. Sortez la Flow Cell de son emballage conformément aux instructions suivantes.
 - a. Enfilez une nouvelle paire de gants sans talc pour éviter de contaminer la surface en verre de la Flow Cell.
 - b. Placez l'emballage en aluminium sur une surface plate, puis ouvrez-le en partant de l'extrémité angulaire.
 - c. Retirez l'emballage en plastique transparent qui couvre la Flow Cell.
 - d. Sortez la Flow Cell de son emballage. Saisissez la Flow Cell par les côtés en évitant de toucher le verre et les joints du dessous.
 - e. Si des particules sont visibles sur l'une ou l'autre des surfaces en verre de la Flow Cell, nettoyez la surface à l'aide d'une lingette alcoolisée non pelucheuse et séchez-la avec un chiffon de laboratoire peu pelucheux.
 - f. Jetez l'emballage de manière appropriée.
 - Il est normal que de petites rayures et d'autres défauts superficiels mineurs soient visibles sur la Flow Cell, ce qui ne devrait pas compromettre la qualité des données ni le rendement.
 Illumina recommande d'utiliser ces Flow Cell comme d'habitude.
- 7. Alignez la Flow Cell sur les quatre pinces relevées et placez-la sur la platine de Flow Cell.

Destiné à la recherche uniquement.



Figure 17 Flow Cell chargées, alignées sur les pinces

8. Sélectionnez Close (Fermer).

La porte de la Flow Cell se ferme, la RFID et la pression de vide sont vérifiées et le descripteur de la Flow Cell, l'ID de la Flow Cell et l'état de pression de vide de la Flow Cell apparaissent à l'écran.

 Si l'état de pression de vide de la Flow Cell s'affiche comme Pass (Réussite), sélectionnez **Open** (Ouvrir) pour ouvrir la porte de la Flow Cell et passez à *Charger la Flow Cell sur la station* à la page 49.

Si l'état de pression de vide de la Flow Cell s'affiche comme Fail (Échec) :

- a. Sélectionnez **Open** (Ouvrir) pour ouvrir la porte de la Flow Cell.
- b. Sortez la Flow Cell de la platine. Saisissez la Flow Cell par les côtés en évitant de toucher le verre et les joints du dessous.
- c. Vérifiez que la Flow Cell et la platine de la Flow Cell sont exemptes de particules. Si nécessaire, nettoyez la surface concernée avec une lingette non pelucheuse imbibée d'alcool et séchez avec une serviette de laboratoire peu pelucheuse.
- d. Rechargez la Flow Cell en l'alignant sur les quatre pinces relevées et placez-la sur la platine de Flow Cell.
- e. Sélectionnez **Close** (Fermer) pour fermer la porte de la Flow Cell.
- f. Si la pression de vide de la Flow Cell reste en échec, contactez l'assistance technique Illumina.

Grouper, dénaturer et charger les bibliothèques pour le séquençage

La concentration de charge peut varier en fonction des méthodes de préparation, de quantification et de normalisation de la bibliothèque. Pour les instructions, consultez la section Générateur du protocole de dénaturation et de dilution. Une fois que votre bibliothèque groupée est prête, passez à la section *Charger la Flow Cell sur la station* à la page 49.

Charger la Flow Cell sur la station

1. Sortez la Flow Cell de son emballage. Saisissez la Flow Cell par les côtés en évitant de toucher le verre et les joints du dessous.

- 2. Si des particules sont visibles sur l'une ou l'autre des surfaces en verre de la Flow Cell, nettoyez la surface à l'aide d'une lingette alcoolisée non pelucheuse et séchez-la avec un chiffon de laboratoire peu pelucheux.
- 3. Jetez l'emballage de manière appropriée.
 - Il est normal que de petites rayures et d'autres défauts superficiels mineurs soient visibles sur la Flow Cell, ce qui ne devrait pas compromettre la qualité des données ni le rendement.
 Illumina recommande l'utilisation de ces Flow Cell selon les procédures habituelles.
- 4. Retournez la Flow Cell de sorte que la surface supérieure soit orientée vers *le bas*.
- 5. Glissez l'extrémité de sortie de la Flow Cell sous le support et placez-la sur la station. Consultez la section *Flow Cell* à la page 17 et à la section *NovaSeq Xp Flow Cell Dock* à la page 21.



Figure 18 Positionnement de la Flow Cell

 Avec les puits orientés vers le haut, chargez le collecteur NovaSeq Xp sur l'extrémité d'entrée de la Flow Cell. Assurez-vous que les bras du collecteur NovaSeq Xp s'insèrent solidement dans les découpes de la station.

Figure 19 Positionnement du collecteur NovaSeq Xp



- A. Puits de collecteur NovaSeq Xp orientés vers le haut
- B. Bras de collecteur NovaSeq Xp placés dans les découpes de la station
- 7. Fermer la pince pour fixer la Flow Cell et le collecteur NovaSeq Xp et sceller les joints.
- 8. Jetez le collecteur NovaSeq Xp après avoir chargé les groupes de bibliothèques dans la Flow Cell. Le collecteur NovaSeq Xp est à usage unique.

Document n° 100000019358 v18 Destiné à la recherche uniquement. Ne pas utiliser dans le cadre d'examens diagnostiques.

Préparation du mélange maître ExAmp

Lors de la préparation du mélange maître ExAmp, utilisez un tube de microcentrifugeuse contenant au moins deux fois le volume requis :

- Pour la Flow Cell à deux lignes, utilisez un tube de 0,5 ml ou de 1,7 ml.
- Pour la Flow Cell à quatre lignes utilisez un tube de 1,7 ml.

Les causes les plus fréquentes de variation des résultats lors du mélange manuel des réactifs ExAmp sont une distribution inexacte des volumes et un mélange insuffisant. Ne pas sous-mélanger.

Les consommables DPX1 et DPX2 peuvent être étiquetés JPX1 et JPX2. Les deux sont compatibles avec les kits de réactifs v1.0 ou v1.5.

- 1. Renversez ou vortexez brièvement pour mélanger DPX1/JPX1 et DPX2/JPX2.
- 2. Vortexez brièvement le DPX3.

Les réactifs ExAmp peuvent s'être séparés pendant le stockage. Ils sont visqueux, notamment DPX2/JPX2 et DPX3. Le DPX3 ne se mélange pas facilement lorsqu'il est retourné en raison de sa viscosité élevée.

- 3. Centrifugez brièvement les DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 et DPX3.
- 4. Combinez dans l'ordre précisé les volumes suivants dans un tube de microcentrifugation adapté.

Ordre d'ajout	Réactif*	Volume pour Flow Cell à deux lignes (SP/S1/S2) (µl)	Volume pour Flow Cell à quatre lignes (S4) (µI)
1	DPX1/JPX1	126	315
2	DPX2/JPX2	18	45
3	DPX3	66	165

*Les bouchons des tubes de réactif DPX/JPX peuvent être codés par couleur (rouge, jaune et bleu pour DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 et DPX3, respectivement). Assurez-vous que le code couleur est préservé lors du remplacement des bouchons de tube.

Ces volumes entraînent un mélange réactionnel ExAmp de 210 µl pour le mode SP, S1 ou S2, ou un mélange réactionnel de 525 µl pour le mode S4. Ces volumes sont suffisants pour le mode applicable. Un volume supplémentaire est inclus pour tenir compte des erreurs de pipetage lors du chargement des bibliothèques sur la Flow Cell.

- 5. Pipetez et distribuez lentement pour éviter les bulles et assurez-vous que tout le volume est expulsé de l'embout.
- 6. Vortexez pendant 20 à 30 secondes, ou jusqu'à ce que le mélange soit complet.

i Le mélange réactionnel ExAmp est stable au vortex.

Le mélange peut sembler trouble, ce qui est normal.

7. Centrifugez à 280 × g maximum pendant 1 minute maximum.

Document nº 100000019358 v18

Destiné à la recherche uniquement.

 Pour obtenir les meilleures performances de séquençage, passez immédiatement à l'étape suivante. Si nécessaire, le stockage idéal du mélange réactionnel peut être conservé jusqu'à 1 heure sur de la glace. Utiliser dans les 30 minutes si le produit est conservé à température ambiante.

Charger les bibliothèques dans la Flow Cell

Pour de meilleurs résultats, procédez comme suit :

- Maintenir la Flow Cell chargée à température ambiante. Ne pas réfrigérer ni placer sur de la glace.
- Une incubation prolongée peut réduire le pourcentage d'amplifiats passant le filtre (%PF).
- Démarrer la série dans les 30 minutes suivant le chargement des groupes de bibliothèques sur la Flow Cell.
- L'utilisation immédiate du mélange ExAmp/bibliothèque donne les meilleurs résultats.
- 1. Ajoutez le mélange maître ExAmp à chaque groupe de bibliothèques dénaturé comme suit, puis mélangez au vortex pendant 20 à 30 secondes.

Si des bandes de tubes sont utilisées, pipeter pour mélanger jusqu'à ce qu'elles soient homogènes.

Mode	Groupe de bibliothèques dénaturées (µl)	Mélange maître ExAmp (µl)	Volume résultant (µl)
SP/S1	27	63	90
S2	33	77	110
S4	45	105	150

- 2. Centrifugez à 280 × g maximum pendant 1 minute maximum.
- 3. À l'aide d'une pipette p200 µl, ajoutez le volume approprié de mélange ExAmp/bibliothèque dans chaque puits du collecteur NovaSeq Xp.
 - Pour éviter de créer des bulles, chargez les échantillons lentement.
 - Assurez-vous d'ajouter le mélange de groupe de bibliothèques dans le puits correspondant à la ligne prévue.
 - Éviter tout contact avec le filtre au fond du puits lors du pipetage.
 - Il n'est pas nécessaire d'attendre qu'une ligne se remplisse complètement avant d'ajouter le mélange aux puits restants du collecteur.

Mode	Mélange bibliothèque/ExAmp par puits (µl)
SP/S1	80
S2	95
S4	130

Les puits numérotés du collecteur NovaSeq Xp correspondent au numéro de la ligne de la Flow Cell. Lorsque la Flow Cell est inversée, la numérotation de ligne est inversée.

Document n° 100000019358 v18

Destiné à la recherche uniquement.



Figure 20 Numérotation de ligne inversée

- Après avoir ajouté le mélange ExAmp/bibliothèque dans tous les puits du collecteur, attendre environ 2 minutes que le mélange atteigne l'extrémité opposée de chaque ligne. Une petite bulle d'air à l'extrémité de sortie de la ligne est normale. Un petit volume de mélange peut rester dans les puits du collecteur après le remplissage de la ligne.
 - •

N'inclinez pas la Flow Cell lorsque vous essayez de déterminer si les lignes sont remplies ou si des bulles sont présentes. L'inclinaison peut provoquer une fuite du mélange
 ExAmp/bibliothèque de la Flow Cell. Si une ligne ne se remplit pas complètement, n'essayez pas de la corriger. Le rendement des données de la ligne partiellement remplie peut être réduit. Ne tentez pas de récupérer l'échantillon de la Flow Cell.

i N'inclinez pas la Flow Cell lors de son transport.

Préparation des cartouches SBS et d'amplification

- 1. Vérifiez le dessous de chaque cartouche pour vous assurer qu'il n'y a pas de glace dans les réservoirs, ce qui indique que les réactifs sont décongelés.
- 2. Retournez chaque cartouche 10 fois pour mélanger les réactifs.
- 3. Tapotez doucement le fond de chaque cartouche sur la paillasse pour réduire les bulles d'air.

Préparer les primers personnalisés

Si votre bibliothèque nécessite des amorces personnalisées, préparez-les en suivant les instructions de la *Guide des primers personnalisés de NovaSeq Series (document n° 100000022266).*

Charger le tube de bibliothèques vide

- 1. Débouchez le tube de bibliothèques fourni avec le Trousse de réactifs NovaSeq 6000 Reagent.
- 2. Insérez le tube de bibliothèques sans bouchon dans le **tube de bibliothèques** position n° 8 de la cartouche d'amplification.

Le tube de bibliothèques vide doit être présent pour la lecture RFID et le mélange des réactifs embarqués. Le code-barres du tube de bibliothèques n'est pas validé par rapport au code-barres spécifié dans le fichier LIMS. La RFID est validée pour s'assurer que le tube n'a pas été utilisé.

Figure 21 Tube de bibliothèques sans bouchon chargé dans la position nº 8



Destiné à la recherche uniquement.

Séquençage

Configurez une série de séquençage

Illumina vous recommande de rester connecté pendant l'exécution du NVCS et pendant qu'une série de séquençage est en cours.

1. Retirez tous les éléments de la surface de l'instrument.

Gardez la surface dégagée pendant la série de séquençage et évitez de vous appuyer sur l'instrument. Toute pression sur la porte de la Flow Cell peut déclencher son ouverture, ce qui interrompt l'analyse. Les analyses interrompues ne peuvent pas être reprises.

🚺 🛛 Le démarrage échelonné des nouvelles séries est pris en charge. Le minuteur de démarrage échelonné indique quand un cycle échelonné peut être démarré. Pour plus d'informations, consultez la section Démarrage échelonné d'analyses à la page 65.

- 2. Sur l'écran Home (Accueil), sélectionnez Sequence (Séquencer), puis choisissez l'analyse d'une Flow Cell unique ou d'une double Flow Cell :
 - A+B : configurez l'analyse d'une cellule de débit double.
 - A : configurez l'analyse d'une cellule de débit unique sur le côté A.
 - B : configurez l'analyse d'une cellule de débit unique sur le côté B.

Le logiciel lance la série d'écrans de configuration de la série, en commençant par Load (Charger).

3. Sélectionnez **OK** pour accepter l'avertissement et ouvrir la porte de la Flow Cell.

Chargement de la Flow Cell sur l'instrument

- 1. Retirez la Flow Cell de l'analyse précédente, si elle se trouve encore dans l'appareil.
- 2. Si des particules sont visibles sur la platine de Flow Cell, nettoyez toute la platine, y compris l'interface fluidique et la surface de verre de la cible d'alignement optique, avec une lingette imbibée d'alcool. Séchez à l'aide d'un tissu non pelucheux.





- 3. [Flux de travail standard]Sortez la Flow Cell de son emballage conformément aux instructions suivantes.
 - a. Enfilez une nouvelle paire de gants sans talc pour éviter de contaminer la surface en verre de la Flow Cell.
 - b. Placez l'emballage en aluminium sur une surface plate, puis ouvrez-le en partant de l'extrémité angulaire.
 - c. Retirez l'emballage en plastique transparent qui couvre la Flow Cell.
 - d. Sortez la Flow Cell de son emballage. Saisissez la Flow Cell par les côtés en évitant de toucher le verre et les joints du dessous.
 - e. Si des particules sont visibles sur l'une ou l'autre des surfaces en verre de la Flow Cell, nettoyez la surface à l'aide d'une lingette alcoolisée non pelucheuse et séchez-la avec un chiffon de laboratoire peu pelucheux.
 - f. Jetez l'emballage de manière appropriée.
 - Il est normal que de petites rayures et d'autres défauts superficiels mineurs soient visibles sur la Flow Cell, ce qui ne devrait pas compromettre la qualité des données ni le rendement.
 Illumina recommande l'utilisation de ces Flow Cell selon les procédures habituelles.
- 4. [NovaSeq Xp flux de travail] Décharger la Flow Cell de la station comme suit.
 - a. Ouvrez la pince qui fixe la Flow Cell et le collecteur.
 - b. Sans laisser de liquide s'égoutter sur la Flow Cell, retirez et éliminez soigneusement le collecteur.
 - c. Si du liquide s'écoule sur la Flow Cell, nettoyez-la avec une lingette non pelucheuse imbibée d'alcool et séchez-la avec une serviette de laboratoire non pelucheuse.
 - d. Saisissez les côtés de la Flow Cell pour la retirer de la station. Maintenez la Flow Cell de niveau.
 - e. S'il y a du matériau résiduel sur les joints, tamponner les quatre joints de la Flow Cell avec une serviette non pelucheuse pour les sécher. Ne touchez pas les joints.
 - f. Retournez la Flow Cell autour de l'axe long de sorte que la surface supérieure soit orientée vers le haut.

Figure 23 Inverser la Flow Cell autour de l'axe long



- g. Avant de remettre la station en stockage, inspectez-la et assurez-vous qu'elle est exempte de particules.
- 5. Alignez la Flow Cell sur les quatre pinces relevées et placez-la sur la platine de Flow Cell.

Figure 24 Flow Cell chargées, alignées sur les pinces



 Sélectionnez Close Flow Cell Door (Fermer la porte de la Flow Cell).
 La porte de la Flow Cell se ferme, les capteurs et la RFID sont vérifiés, et l'identifiant de la Flow Cells s'affiche à l'écran.

Charger la cartouche SBS et la cartouche d'amplification

- i Pour le flux de travail NovaSeq Xp, avant de charger la cartouche d'amplification, assurez-vous que le tube de bibliothèques vide et sans bouchon est chargé dans la cartouche.
- 1. Ouvrez les portes du compartiment des liquides, puis ouvrez la porte du réfrigérant pour réactifs.
- Retirez la cartouche SBS et la cartouche d'amplification.
 Les opercules en aluminium des cartouches usagées sont percés.
- Mettez les contenus inutilisés au rebut conformément aux normes en vigueur. Aux fins de l'élimination en toute sécurité de la position nº 30 de la cartouche d'amplification, consultez la section Détacher la position nº 30 à la page 66.

- 4. Chargez les cartouches préparées dans le tiroir du réfrigérant pour réactifs de sorte que les étiquettes **Insert** soient face au dos de l'instrument :
 - Placez la cartouche SBS (étiquette grise) dans la position de gauche.
 - Placez la cartouche d'amplification (étiquette orange) contenant le tube de bibliothèques débouché dans la position de droite.



Figure 25 Cartouches de réactifs chargées

 Glissez le tiroir dans le réfrigérant, puis fermez la porte du réfrigérant pour réactifs. Les capteurs et les RFID sont vérifiés. Les identifiants du tube de bibliothèques et des deux cartouches s'affichent à l'écran.

Charger la cartouche de tampon

- 1. Tirez la poignée métallique pour ouvrir le tiroir de tampon.
- 2. Retirez la cartouche de tampon usagée du côté droit du tiroir de tampon. Les opercules en aluminium des cartouches de tampon usagées sont percés.
- 3. Placez une nouvelle cartouche de tampon dans le tiroir de tampon, de sorte que l'étiquette **Illumina** soit face au devant du tiroir. Alignez la cartouche avec les guides surélevés dans le fond du tiroir et sur les côtés.

Lorsqu'elle est chargée correctement, la cartouche de tampon repose uniformément dans l'appareil, et le tiroir peut fermer.

Figure 26 Charger la cartouche de tampon



- 4. Cochez la case confirmant que les deux flacons de réactifs usagés sont vides une fois que les deux flacons de réactifs ont été vidés.
 - Le fait de ne pas vider les flacons de réactifs usagés peut entraîner un arrêt de l'analyse et un débordement qui endommage l'instrument et constitue un risque pour la sécurité.
- 5. Sélectionnez le bouton disponible :
 - Log In (Connexion) : ouvre l'écran Log In (Connexion) pour vous connecter à votre compte cloud. Pour BaseSpace Sequence Hub, consultez Se connecter à BaseSpace Sequence Hub à la page 59. Pour Illumina Connected Analytics, consultez Se connecter à Illumina Connected Analytics à la page 60.
 - Run Setup (Configuration de la série) : saute BaseSpace Sequence Hub et ouvre l'écran Run Setup (Configuration de la série) pour saisir les paramètres de la série. Passer à la section Saisir les paramètres de la série à la page 60.

Le bouton disponible dépend du fait que le système est configuré ou non pour BaseSpace Sequence Hub.

Se connecter à BaseSpace Sequence Hub

Lorsque vous ouvrez NVCS, votre groupe de travail par défaut dans BaseSpace Sequence Hub est sélectionné comme votre groupe de travail. Si vous n'avez pas indiqué de valeur par défaut, votre groupe de travail personnel est sélectionné.

- 1. [Facultatif] Mettre à jour les paramètres BaseSpace Sequence Hub pour la série en cours :
 - Pour désactiver BaseSpace Sequence Hub, décochez la case **BaseSpace Sequence Hub**, puis sélectionnez **Run Setup** (Configuration de la série) pour continuer sans vous connecter.

- Pour envoyer des données de la série à BaseSpace Sequence Hub pour une surveillance à distance etanalyse des données, sélectionnez **Run Monitoring and Storage** (Surveillance et stockage de la série). Cette option nécessite une feuille d'échantillon.
- Pour envoyer des fichiers InterOp, runinfo.xml et runParameters.xml à BaseSpace Sequence Hub pour surveiller la série à distance, sélectionnez **Run Monitoring Only** (Surveillance de la série uniquement).
- 2. Saisissez votre nom d'utilisateur et votre mot de passe BaseSpace Sequence Hub, puis sélectionnez **Sign In** (Connexion).
- Si vous y êtes invité, sélectionnez un groupe de travail vers lequel télécharger les données de la série, puis sélectionnez **Run Setup** (Configuration de la série).
 Vous y êtes invité uniquement si vous faites partie de plusieurs groupes de travail.

Se connecter à Illumina Connected Analytics

- 1. **[Facultatif]** Mettez à jour les paramètres suivants Illumina Connected Analytics (ICA) pour la série en cours :
 - Pour désactiver ICA, décochez la case Illumina Options Cloud, puis sélectionnez **Run Setup** (Configuration de la série) pour continuer sans vous connecter.
 - Pour envoyer des données de la série à ICA à des fins de surveillance à distance et d'analyse des données, sélectionnez Run Monitoring and Storage (Surveillance et stockage de la série). Cette option nécessite une feuille d'échantillon.
 - Pour envoyer des fichiers InterOp, runinfo.xml et runParameters.xml à ICA pour surveiller la série à distance, sélectionnez **Run Monitoring Only** (Surveillance de la série uniquement).
- 2. Saisissez votre nom d'utilisateur et votre mot de passe ICA, puis sélectionnez Sign In (Connexion).
- 3. Lorsque vous y êtes invité, sélectionnez un groupe de travail et un projet vers lesquels télécharger les données de la série, puis sélectionnez **Run Setup** (Configuration de la série).

Saisir les paramètres de la série

- 1. Si le flux de travail NovaSeq Xp est activé, sélectionnez un type de flux de travail.
 - Si vous sélectionnez **NovaSeq Xp**, assurez-vous qu'un tube de bibliothèques vide est chargé.
 - Si vous sélectionnez **NovaSeq Standard**, assurez-vous que l'échantillon est chargé dans le tube de bibliothèques.
- 2. Dans le champ Run name (Nom de la série), saisissez un nom de votre choix pour identifier la série en cours.

Le nom de la série peut contenir des caractères alphanumériques, des traits d'union et des caractères de soulignement.

3. Saisissez le nombre de cycles pour chaque longueur de lecture et d'index dans la série de séquençage.

Il n'y a pas de nombre maximum de cycles d'indexation, mais la somme des cycles de lecture et des cycles d'indexation doit être inférieure au nombre de cycles pour la trousse.

- Lecture 1 : saisissez une valeur allant jusqu'à 151 cycles pour les trousses v1.0 de 300 cycles, ou jusqu'à 251 pour les trousses v1.0 de 500 cycles. Saisissez une valeur allant jusqu'à 159 cycles pour les trousses v1.5 de 300 cycles, ou jusqu'à 259 cycles pour les trousses v1.5 de 500 cycles.
- Index 1 : saisissez le nombre de cycles pour le primer Index 1 (i7).
- Index 2 : saisissez le nombre de cycles pour le primer Index 2 (i5).
- Lecture 2 : saisissez une valeur allant jusqu'à 151 cycles pour les trousses v1.0 de 300 cycles, ou jusqu'à 251 pour les trousses v1.0 de 500 cycles. Saisissez une valeur allant jusqu'à 159 cycles pour les trousses v1.5 de 300 cycles, ou jusqu'à 259 cycles pour les trousses v1.5 de 500 cycles. Cette valeur est généralement la même que celle de la Lecture 1.

Le nombre de cycles analysés en lecture 1 et lecture 2 est inférieur d'un cycle à la valeur saisie.
 Par exemple, pour effectuer une série de 150 lectures appariées (série 2 × 150 bp), saisissez la valeur de 151 cycles pour les lectures 1 et 2.

Pour les trousses v1.0, la somme des quatre valeurs saisies peut dépasser le nombre de cycles indiqué pour la trousse de réactif sélectionnée jusqu'à 23 cycles pour les séries à lecture appariée et 30 cycles pour les séries à lecture unique.

Pour les trousses v1.5, la somme des quatre valeurs saisies peut dépasser le nombre de cycles indiqué pour la trousse de réactif sélectionnée jusqu'à 38 cycles pour les séries à lecture appariée et à lecture unique.

La trousse S4 35 cycles contient un total de 72 cycles de séquençage. La somme des quatre valeurs peut dépasser le nombre indiqué de 37 cycles maximum. Les valeurs de lecture par défaut sont modifiables et le nombre de cycles peut être réparti sur les 4 lectures, par ex. : 36, 10, 10, 0.

4. Développez **Advanced Options** (Options avancées) pour appliquer les paramètres de la série en cours.

Ces paramètres sont facultatifs, sauf indication contraire.

- Primers personnalisés v1.0 : cochez la case Custom Primers (Primers personnalisés), puis cochez les cases appropriées. Les bibliothèques Illumina DNA PCR-Free Prep, Tagmentation nécessitent une amorce de séquençage personnalisée Lecture 1 (VP10) si vous utilisez des trousses v1.0. Consultez Guide des primers personnalisés de NovaSeq Series (document n° 100000022266) pour plus de détails.
 - Lecture 1 : Utilisez une base personnalisée pour la lecture 1.
 - Lecture 2 : utilisez le primer personnalisé pour la lecture 2.

Destiné à la recherche uniquement.

- Index personnalisé : utilisez le primer personnalisé pour l'index 1.
- Primers personnalisés v1.5 : cochez la case Custom Primers (Primers personnalisés), puis cochez les cases appropriées. Les bibliothèques Illumina DNA PCR-Free Prep, Tagmentation ne nécessitent pas d'amorce de séquençage personnalisée si vous utilisez des trousses v1.5. Consultez Guide des primers personnalisés de NovaSeq Series (document n° 100000022266) pour plus de détails.
 - Lecture 1 : Utilisez une base personnalisée pour la lecture 1.
 - Lecture 2 : utilisez le primer personnalisé pour la lecture 2.
 - Index personnalisé : utilisez le primer personnalisé pour les lectures d'index 1 et d'index 2.
- Dossier de sortie : sélectionnez Browse (Parcourir) pour modifier le dossier de sortie de la série en cours. Un dossier de sortie est requis lorsque la série n'est pas connectée à BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics pour le stockage.
- Samplesheet (Feuille d'échantillon) : sélectionnez Browse (Parcourir) pour télécharger une feuille d'échantillon, requise lors de l'utilisation de BaseSpace Sequence Hub ou de Illumina Connected Analytics pour la surveillance et le stockage de la série, ou un autre fichier CSV. Le fichier CSV est copié dans le dossier de sortie et n'affecte pas les paramètres de la série. S'assurer que la feuille d'échantillon téléchargée est au format approprié (direction de l'adaptateur de l'index Lecture 2) en fonction des flux de travail v1.0 et v1.5 qui utilisent différentes stratégies. Le flux de travail sur les brins avant est effectué avec les trousses de réactifs v1.0. Le flux de travail du complément inversé est effectué avec les trousses de réactif v1.5.
- Recette personnalisée : sélectionnez Custom Recipe (Recette personnalisée), puis Browse (Parcourir) pour utiliser une recette personnalisée au format XML pour cette série. Les recettes personnalisées pour la v1.0 ne seront pas compatibles avec la v1.5. Pour plus d'informations, contactez l'assistance technique Illumina.
- La modification des étapes d'amplification dans une recette personnalisée n'est pas prise en charge.
- Sélectionnez Review (Examiner).
 Le logiciel confirme que les paramètres spécifiés sont appropriés pour la recette.

Confirmer les paramètres de la série

- 1. Confirmez les paramètres de la série affichés sur l'écran Review (Examiner).
- 2. **[Facultatif]** Sélectionnez **Back** (Retour) pour revenir à l'écran Run Setup (Configuration de la série) et modifier les paramètres de la série.
- Sélectionnez Start Run (Démarrer la série).
 Les vérifications préalables à la série sont lancées automatiquement.

Passer en revue les vérifications préalables au séquençage

Attendez environ 5 minutes pour que la vérification préalable à l'analyse se termineles.
 la série débute automatiquement après la réussite de la vérification.

- 2. Si les vérifications avant analyse échouent en raison d'une erreur liée au capteur, comme une Flow Cell non détectée, quittez et redémarrez le flux de travail.
- Pour les autres types d'échec des vérifications avant analyse, sélectionnez Retry (Réessayer) pour redémarrer la vérification qui a échoué ou Retry All (Réessayer tout) pour redémarrer toutes les vérifications.

Les erreurs doivent être résolues pour que l'analyse puisse démarrer. Consultez la section *Erreurs lors de la vérification avant analyse* à la page 76 pour plus d'informations de dépannage.

- 4. Sélectionnez l'icône Error (Erreur) pour voir les précisions sur les erreurs.
- 5. Si la vérification de l'alignement échoue, résolvez l'erreur comme suit.
 - a. Sélectionnez **Reload** (Recharger), puis sélectionnez **OK** pour confirmer le retour à l'écran Load (Charger).
 - b. Retirez tous les éléments qui se trouvent sur le dessus de l'instrument, puis sélectionnez **OK**. La poste de la Flow Cell s'ouvre.
 - c. Rechargez la Flow Cell, puis sélectionnez Run Setup (Configuration de l'analyse).
 - d. Examinez chaque écran pour relire chaque RFID et retournez à l'écran Pre-Run Checks (Vérifications avant analyse).
 - e. Refaites la vérification.

Pour éviter de surcharger le disque dur, ne copiez aucune donnée sur le lecteur C après le démarrage de l'analyse.

Surveiller la progression de la série

1. Surveillez la progression de la série, les intensités et les scores de qualité lorsque les métriques apparaissent à l'écran.

Pour plus d'informations sur les mesures de série, consultez la section *Real-Time Analysis* à la page 80.





- A. **Time to completion (Fin de l'analyse)** : la date et l'heure de fin de l'analyse (au format aaaamm-jj hh:mm).
- B. **Run progress (Progression de l'analyse)** : l'étape de l'analyse en cours. La taille de labarre de progression n'est pas proportionnelle à la durée d'analyse de chaque étape.
- C. Q-scores (Scores de qualité) : la répartition des scores de qualité.
- D. **Intensité** : la valeur des intensités d'amplifiats du 90^e centile pour chaque plaque. Les couleurs du tracé indiquent les canaux rouges et verts.
- E. Clusters passing filter (%) (Amplifiats passant le filtre [%]) : le pourcentage d'amplifiats passant le filtre.
- F. **Rendement total attendu (Gb)** : le rendement total attendu pour l'analyse de Flow Cell. Si les indicateurs par ligne sont sélectionnés (H), les nombres affichés indiquent le rendement par ligne et seront mis à jour tout le long de l'analyse à chaque cycle.
- G. **Q30** : le pourcentage de définitions des bases pour l'analyse qui a un score de qualité \ge 30.
- H. **Répartition par ligne** La sélection des valeurs dans les éléments E, F et G affichera une répartition par ligne des données pour chacun de ces champs.
- i Si un arrêt ou un redémarrage est initié alors que le NVCS est en cours d'exécution, confirmez cette action avant que l'arrêt ou le redémarrage puisse continuer.

Indicateurs de l'analyse

Le logiciel affiche les indicateurs générés au cours de l'analyse. Les indicateurs s'affichent sous forme de diagrammes, de graphiques et de tableaux qui s'appuient sur des données générées par RTA3 et qui sont enregistrés dans des fichiers InterOp.

La génération d'amplifiats prend environ 2 heures, puis le séquençage démarre avec le premier cycle. Les indicateurs sont mis à jour tout au long du séquençage. Les amplifiats passant le filtre, le rendement et les scores de qualité sont disponibles après le cycle 26. Avant le cycle 26, aucune valeur ne sera affichée, les champs afficheront la mention sans objet.

Statut du traitement

L'écran Process Management (Gestion du processus) répertorie l'état de chaque série. Dans le Main Menu (Menu principal), sélectionnez **Process Management** (Gestion des processus).

Pour chaque nom d'analyse, l'écran Process Management (Gestion du processus) indique l'état des processus suivants :

- État de l'analyse : basé sur le traitement des fichiers CBCL.
- **Réseau** : basé sur le transfert des fichiers à l'aide de Universal Copy Service.
- BaseSpace : basé sur le téléchargement du fichier vers BaseSpace Sequence Hub, le cas échéant.

Lorsqu'un processus est terminé, une coche verte apparaît. Pour plus d'informations, consultez la section *Gestion du processus* à la page 11*Gestion du processus* à la page 11.

Démarrage échelonné d'analyses

Il est possible de configurer et démarrer une analyse sur le côté inactif de l'instrument pendant qu'une analyse est en cours de l'autre côté. Ceci s'appelle un démarrage échelonné. Les analyses échelonnées sont configurées pour démarrer à un temps précis pendant l'analyse, tel qu'indiqué par les états de démarrage suivants du minuteur décroissant.

- Run Start: Available (Démarrage de l'analyse : disponible) : le démarrage échelonné est actuellement disponible. La date et l'heure affichées indiquent lorsque le démarrage de l'analyse ne sera plus disponible. Sélectionnez Sequence (Séquençage) pour commencer une nouvelle analyse échelonnée une fois que le cycle en cours est terminé.
- Run Start: Unavailable (Démarrage de l'analyse : non disponible) : le démarrage échelonné est actuellement indisponible. La date est l'heure affichées indiquent lorsque le démarrage de l'analyse sera disponible de l'autre côté de l'instrument.
- Waiting... (En attente...) : si une nouvelle analyse est lancée alors que le démarrage échelonné n'est pas disponible, l'état change à Waiting (En attente) et la date et l'heure affichées sont une approximation du moment où l'instrument sera prêt pour une nouvelle analyse. L'instrument procède à la configuration de l'analyse lorsque le démarrage échelonné est disponible.

Lorsque vous configurez la nouvelle analyse, le logiciel interrompt et reprend automatiquement l'analyse sur la Flow Cell adjacente au besoin. Le système est placé en état de sécurité lorsqu'il est interrompu.

Procédure

- Sur l'écran Home (Accueil), sélectionnez Sequence (Séquençage), puis A ou B. Le côté sélectionné doit correspondre au côté inactif.
- Attendez que l'analyse sur la Flow Cell adjacente s'interrompe. Pour annuler la nouvelle analyse et prévenir l'interruption, sélectionnez Cancel (Annuler).
 Si l'analyse adjacente est à l'étape de la génération d'amplifiats, de la resynthèse appairée, de l'imagerie ou du lavage, le logiciel termine l'étape en cours avant de s'interrompre.
- 3. Lorsque l'analyse adjacente s'interrompt et que les portes de la Flow Cell s'ouvrent, configurez la nouvelle analyse.

Lors du démarrage d'une nouvelle analyse, l'analyse interrompue reprend automatiquement.

Supprimer la série

Une fois le transfert de données terminé, vous pouvez supprimer la série en cours de la gestion des processus pour libérer de l'espace pour une série ultérieure. La suppression de la série efface le CE et le lecteur C sans supprimer les fichiers de maintenance du système, affecter le réseau ou affecter la copie BaseSpace Sequence Hub. Les séries qui sont en cours de séquençage ne peuvent pas être supprimées.

- 1. Dans le Main Menu (Menu principal), sélectionnez Process Management (Gestion des processus).
- 2. **[Facultatif]** Assurez-vous que chaque processus de la série affiche une coche verte, ce qui indique que le transfert de données est terminé.

Vous pouvez supprimer une série qui n'a pas terminé le transfert vers un réseau ou BaseSpace Sequence Hub, mais toutes les données de la série sont perdues.

- 3. Sélectionnez Delete Run (Supprimer la série), puis sélectionnez Yes (Oui) pour confirmer.
- 4. Sélectionnez Done (Terminé).

Détacher la position nº 30

Le réservoir en position n° 30 de la cartouche d'amplification contient du formamide. Il est retiré de la cartouche d'amplification usagée et jetée séparément.

- Cet ensemble de réactifs contient des produits chimiques potentiellement dangereux. Des dommages corporels peuvent survenir en cas d'inhalation, d'ingestion, de contact avec la peau ou les yeux. La ventilation doit être appropriée pour la manipulation de matières dangereuses dans les réactifs. Porter un équipement de protection, y compris des lunettes de protection, des gants et une blouse de laboratoire adaptés au risque d'exposition. Manipuler les réactifs usagés comme des déchets chimiques et les mettre au rebut conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur. Pour de plus amples informations relatives à l'environnement, à la santé et à la sécurité, consultez la SDS à l'adresse support.illumina.com/sds.html.
- 1. Équipé de gants, appuyez sur l'onglet en plastique blanc à droite qui porte la mention **Détacher après utilisation**.
- 2. Placez une main ou une surface solide sous le réservoir et poussezl'onglet de plastique transparent vers l'étiquette Illumina pour éjecter le réservoir de sous la cartouche d'amplification.

i Évitez d'empiler les cartouches d'amplifiat lors de leur entreposage. Un empilement pourrait causer un décollement accidentel du réservoir.

Figure 28 Position nº 30 amovible



- A. Onglet en plastique blanc pour détacher
- B. Onglet en plastique transparent pour éjecter
- 3. Mettez le réservoir au rebut conformément aux normes de sécurité en vigueur.

Lavage automatique post-série

Lorsque le séquençage est terminé, le logiciel lance un lavage automatique après analyse qui prend environ 80 minutes. Le système pompe une solution d'hypochlorite de sodium (NaOCI) à 0,24 % de la position nº 17 et la dilue à 0,12 %. La solution de NaOCI à 0,12 % est pompée vers les positions des réactifs ExAmp et des bibliothèques, à travers la Flow Cell, puis vers les flacons de réactifs usagés. Le lavage rince le système avec ce liquide afin de prévenir la contamination croisée.
Lorsque le lavage est terminé, le système est placé en état de sécurité et le bouton Home (Accueil) devient actif. Laissez les consommables en place jusqu'à l'analyse suivante. Après le lavage, les dispositifs d'aspiration demeurent dans la cartouche SBS et la cartouche d'amplification afin d'empêcher l'air d'entrer dans le système. Les dispositifs d'aspiration de la cartouche de tampon sont levés pour que les flacons de réactifs usagés puissent être vidés.



i Si une erreur se produit pendant un lavage automatique après analyse et que le lavage après analyse est incomplet, un lavage de maintenance est nécessaire.

Destiné à la recherche uniquement.

Maintenance

Maintenance préventive

Illumina vous recommande de planifier un service de maintenance préventive chaque année. Si vous n'êtes pas lié par un contrat de services, communiquez avec le gestionnaire de compte commercial de votre zone ou avec l'assistance technique Illumina pour organiser un service de maintenance préventive facturable.

Effectuer un lavage de maintenance

Des invites logicielles pour un lavage de maintenance s'afficheront aux moments suivants :

- lorsqu'il n'y a pas eu d'analyse utilisant au moins quatre lignes avec un lavage après analyse au cours des 14 derniers jours ;
- lorsqu'il n'y a pas eu de lavage de maintenance au cours des 14 derniers jours.
- Lorsqu'un lavage après analyse échoue ou est incomplet.

Le lavage de maintenance rince le système avec des dilutions de Tween 20 et de NaOCI fournies par l'utilisateur. Les dilutions sont pompées des cartouches de lavage vers la Flow Cell, les flacons de réactif usagé et chaque réservoir de cartouche, afin de laver tous les dispositifs d'aspiration. La durée du lavage est d'environ 80 minutes.

Un lavage de maintenance nécessite une cartouche de tampon usagée et la cartouche de lavage SBS, la cartouche de lavage de la position d'amplification et la Flow Cell de lavage à quatre lignes fournie avec l'instrument (ou une Flow Cell à quatre lignes usagée). Tout comme les cartouches de réactifs, les cartouches de lavage ont un code de couleurs pour prévenir les erreurs de chargement. La cartouche de lavage SBS a un puits central pour la dilution de Tween 20. La dilution de NaOCI est ajoutée à un réservoir de la cartouche de lavage de la position d'amplification.

Le fait de ne pas vider les flacons de réactifs usagés peut entraîner un arrêt du lavage et un débordement qui endommage l'instrument et constitue un risque pour la sécurité.

Figure 29 Cartouche de lavage de la position SBS (à gauche) et cartouche de lavage de la position d'amplification (à droite)



Préparer la solution de lavage

- 1. Ajoutez 400 ml d'eau de laboratoire à un flacon de centrifugeuse de 500 ml.
- 2. Ajoutez 0,2 ml de Tween 20 à 100 % pour obtenir au moins 400 ml de solution de lavage Tween 20 à 0,05 %.

L'utilisation d'une solution de Tween 20 fraîchement préparée limite l'introduction de contaminants biologiques dans le système fluidique.

- 3. Retournez pour mélanger.
- 4. Retirez le couvercle du puits central de la cartouche de lavage SBS.
- Ajoutez la solution de lavage dans le puits central. Remplissez jusqu'à la ligne MILN FULL VOLUME (Volume de remplissage minimal), qui indique le volume minimal requis. Les autres réservoirs demeurent vides.

Figure 30 Centrer le puits rempli à la ligne MIN FILL VOLUME (Volume de remplissage mini)



- Combinez les volumes suivants dans un tube pour centrifugeuse de 30 ml pour préparer 20 ml de NaOCI de qualité « réactif » à 0,25 % :
 - NaOCI de qualité « réactif », 5 % (1 ml)
 - Eau désionisée (19 ml)

Document n° 100000019358 v18

Destiné à la recherche uniquement.

- Utilisez du NaOCI de qualité « réactif » uniquement. Évitez l'utilisation de produits de blanchiment, car ils peuvent contenir des composés d'ammoniaque, ce qui pourrait entraîner des séries avec un faible pourcentage de lectures passant le filtre.
- 7. Retournez pour mélanger.
- 8. Ajouter une cartouche de 5 ml 0,25 % de NaOCI de qualité réactif.

L'emplacement est marqué Fill (Remplissage) et est entouré d'un cercle orange. Tous les autres réservoirs demeurent vides.

Figure 31 Position du NaOCI à 0,25 %



Charger la Flow Cell de lavage

1. Retirez tous les éléments de la surface de l'instrument.

Gardez la surface dégagée pendant le lavage de maintenance et évitez de vous appuyer sur l'instrument. Toute pression sur la porte de la Flow Cell peut déclencher son ouverture, ce qui interrompt le lavage.

Destiné à la recherche uniquement.

- 2. Sur l'écran d'accueil, sélectionnez Wash (Laver), puis sélectionnez le côté à laver :
 - A+B : laver les deux côtés simultanément.
 - A : laver le côté A uniquement.
 - **B** : laver le côté B uniquement.

Le logiciel lance une série d'écrans de lavage.

- In lavage de maintenance pour un seul côté ne peut commencer que lorsque l'autre côté est inactif ou exécute des cycles de lecture SBS. L'heure de démarrage échelonnée du NVCS indique la disponibilité pour démarrer une nouvelle analyse ou un lavage. Consulter la section Démarrage échelonné d'analyses à la page 65.
- 3. Sélectionnez **OK** pour accepter l'avertissement et ouvrir la porte de la Flow Cell.
- 4. Si elle n'est pas déjà présente, charger une Flow Cell de lavage ou une Flow Cell à 4 lignes usagée.
- Sélectionnez Close Flow Cell Door (Fermer la porte de la Flow Cell).
 La porte se ferme, les capteurs et la RFID sont vérifiés, et l'identifiant de la Flow Cell s'affiche à l'écran.

Charger les cartouches de lavage

Il est nécessaire d'utiliser des cartouches de lavage pour réaliser un lavage de maintenance. N'utilisez pas la cartouche SBS ni la cartouche d'amplification usagées.

- 1. Ouvrez les portes du compartiment des liquides, puis ouvrez la porte du réfrigérant pour réactifs.
- Retirez la cartouche SBS et la cartouche d'amplification de réactifs usagées. Mettez les contenus inutilisés au rebut conformément aux normes en vigueur. Aux fins de l'élimination en toute sécurité de la position n° 30 de la cartouche d'amplification, consultez la section Détacher la position n° 30 à la page 66.
- 3. Chargez les cartouches de lavage dans le tiroir du réfrigérant pour réactifs de sorte que les étiquettes d'**Insert** soient face au dos de l'instrument :
 - Placez la cartouche SBS (étiquette grise) dans la position de gauche.
 - Placez la cartouche d'amplification (étiquette orange) dans la bonne position.
- 4. Glissez le tiroir dans le réfrigérant, puis fermez la porte du réfrigérant pour réactifs. Les capteurs sont vérifiés, et la RFID pour chaque cartouche est balayée et affichée à l'écran.
- 5. Ouvrez le tiroir de tampon.
- 6. Si une cartouche de tampon usagée n'est pas déjà présente, chargez-en une.

Vider les flacons de réactifs usagés

Suivez les instructions ci-dessous pour vider les flacons de réactifs usagés avant *chaque* lavage de maintenance. Mêê si votre système est configuré pour évacuer les réactifs usagés vers l'extérieur, le petit flacon collecte les réactifs usagés et le grand flacon doit être en place.

- Cet ensemble de réactifs contient des produits chimiques potentiellement dangereux. Des dommages corporels peuvent survenir en cas d'inhalation, d'ingestion, de contact avec la peau ou les yeux. La ventilation doit être appropriée pour la manipulation de matières dangereuses dans les réactifs. Porter un équipement de protection, y compris des lunettes de protection, des gants et une blouse de laboratoire adaptés au risque d'exposition. Manipuler les réactifs usagés comme des déchets chimiques et les mettre au rebut conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur. Pour de plus amples informations relatives à l'environnement, à la santé et à la sécurité, consultez la SDS à l'adresse support.illumina.com/sds.html.
- 1. Retirez le petit flacon de reactifs usagés et éliminez le contenu conformément aux normes applicables dans votre région. Gardez le contenu séparé du contenu de l'autre flacon.
- 2. Remettez le petit récipient de réactif usagé dans l'alcôve.
- 3. Retirez le grand flacon de réactifs usagés et jetez le contenu conformément aux normes applicables.
- 4. Remettez le grand flacon de réactifs usagés dans le tiroir de tampon.
- 5. Enfilez une nouvelle paire de gants sans talc.
- Fermez le tiroir de tampon, puis fermez les portes du compartiment des liquides.
 Les capteurs et les RFID sont vérifiés. L'ID de chaque composant de lavage s'affiche à l'écran.

Démarrer le lavage

1. Cochez la case confirmant que les deux flacons de réactifs usagés sont vides, puis sélectionnez **Start Wash** (Démarrer le lavage).

Le lavage démarre, et la durée estimée du lavage s'affiche.

Le fait de ne pas vider les flacons de réactifs usagés peut entraîner un arrêt du lavage et un débordement qui endommage l'instrument et constitue un risque pour la sécurité.

- 2. Une fois le lavage terminé, sélectionnez Home (Accueil).
- Laissez les consommables en place jusqu'à l'analyse suivante.
 Les dispositifs d'aspiration demeurent dans la cartouche SBS et la cartouche d'amplification afin d'empêcher l'air d'entrer dans le système. Les dispositifs d'aspiration de la cartouche de tampon sont levés pour que les flacons de réactifs usagés puissent être vidés.

Mises à jour des logiciels

Les mises à jour logicielles sont disponibles pour NVCS version 1.4 ou ultérieure. Les mises à jour logicielles peuvent être téléchargées et installées à partir de NVCS. La vérification automatique des mises à jour logicielles est activée par défaut. Vous pouvez activer ou désactiver les mises à jour automatiques dans Paramètres.

Le NovaSeq 6000 doit être connecté à Internet pour vérifier les mises à jour logicielles et télécharger les mises à jour.

La vérification automatique des mises à jour est effectuée toutes les 24 heures. Une notification s'affiche dans le menu principal lorsqu'une mise à jour est disponible. La notification de mise à jour est visible par tous les utilisateurs, mais seul un administrateur peut télécharger et installer les mises à jour.

Pour le flux de travail NovaSeq Xp, assurez-vous que la NVCS version répond aux exigences minimales du logiciel énumérées dans le tableau suivant avant de commencer la préparation des échantillons ou des consommables.

Flow Cell	Version logicielle minimale de la trousse de réactifs v1.0	Version logicielle minimale de la trousse de réactifs v1.5
SP	1.6	1.7
S1	1.3.1	1.7
S2	Toutes	1.7
S4	1.2.0	1.7

Tableau 12 Configuration logicielle minimale requise

Vous ne pouvez pas mettre à jour le logiciel si un séquençage, un lavage, une configuration de série ou un transfert de fichier vers un dossier de sortie ou vers BaseSpace Sequence Hub est en cours. Si un flux de travail NovaSeq Xp est en cours, attendez que les bibliothèques aient été chargées dans la Flow Cell et que le séquençage soit terminé pour mettre à jour le logiciel.

Pour vérifier manuellement les mises à jour, ou pour télécharger et installer une mise à jour, procédez comme suit.

- Dans le menu principal, sélectionnez Software Update (Mise à jour du logiciel). L'écran Mise à jour du logiciel s'affiche, qui fournit des notes de version pour la mise à jour disponible. Si la vérification automatique des mises à jour logicielles n'est pas activée, vous pouvez vérifier manuellement les mises à jour ou activer la vérification automatique.
- 2. Pour télécharger et installer la mise à jour, cochez la case pour accepter que le téléchargement et l'installation prennent environ 30 minutes.
- Sélectionnez Download and Install (Télécharger et installer).
 Lorsque le téléchargement est terminé, NVCS se ferme et le programme d'installation est lancé. Suivez les instructions de l'installateur pour terminer l'installation.
 Si des erreurs se produisent pendant le téléchargement ou l'installation, contactez l'assistance technique Illumina.

Dépannage

Ressources de dépannage

En cas de questions techniques, consultez la page d'assistance NovaSeq 6000 Sequencing System sur le site Web Illumina. La page d'assistance donne accès à la documentation, aux téléchargements et aux foires aux questions. Pour accéder aux bulletins d'assistance, connectez-vous à votre compte Myllumina.

Pour les problèmes de qualité de la série ou de performances, contactez l'assistance technique Illumina. Pour faciliter le dépannage, envisagez de partager un lien vers le résumé de la série dans BaseSpace Sequence Hub avec l'assistance technique Illumina.

Fichiers de dépannage

Fichier clé	Dossier	Description
Fichier d'informations sur la série (RunInfo.xml)	Dossier racine	Contient les paramètres de la série : • Nombre de cycles de la série • Nombre de lectures de l'analyse • Indexation ou non de la lecture • Nombre de témoins et de plaques sur la Flow Cell
Fichier des paramètres de la série (RunParameters.xml)	Dossier racine	Contient le nom de l'analyse et l'information sur les paramètres et les composantes de l'analyse, y compris les données RFID suivantes : numéros de série, numéros de lot, dates d'expiration et numéros de référence.
Fichiers InterOp (*.bin)	InterOp	Fichiers de rapports binaires utilisés pour Sequencing Analysis Viewer. Les fichiers InterOp sont mis à jour tout au long de la série.
Fichiers journaux	Logs (journaux)	Les fichiers journaux décrivent chaqueétape effectuée par l'instrument au cours de chaque cycle, y compris lequel des réactifs est utilisé, et répertorient les versions de logiciels et de progiciels utilisées lors de l'analyse. Le fichier nommé [InstrumentName]_ CurrentHardware.csv répertorie les numéros de série des composants de l'instrument.

Destiné à la recherche uniquement.

Erreurs lors de la vérification avant analyse

Si une erreur survient au cours des vérifications avant analyse, utilisez les actions suivantes pour la résoudre. Si vous configurez l'analyse d'une double Flow Cell et qu'un côté échoue, vous pouvez annuler ce côté et utiliser le côté ayant réussi.

Lorsqu'une vérification avant analyse échoue, la RFID pour la Flow Cell, les réactifs et les tampons ne sont pas verrouillés. Les consommables peuvent donc être utilisés pour une analyse subséquente. Lorsque l'analyse est commencée, les dispositifs d'aspiration percent les opercules en aluminium sur les cartouches de réactifs, et toutes les RFID sont verrouillées.

Vérification du système	Motif de l'échec	Action recommandée
Chargement de la Flow Cell	La Flow Cell ne s'engage pas ou le système ne peut pas lire l'étiquette RFID.	Inspectez et nettoyez la Flow Cell et l'étage de la Flow Cell, puis rechargez la Flow Cell.
Capteurs	La porte d'un compartiment est ouverte, un consommable n'est pas correctement chargé ou au moins un capteur ne fonctionne pas.	Sélectionnez Retry (Réessayer) et suivez les instructions affichées à l'écran pour résoudre l'erreur.
Espace disque	L'espace disque est insuffisant, car l'emplacement indiqué pour le dossier de sortie est plein.	Servez-vous de l'écran Process Management (Gestion du processus) pour libérer de l'espace disque dans l'emplacement du dossier de sortie spécifié.
Connectivité du système	La connexion à RTA3, au système fluidique ou à tout autre élément a été interrompue.	Sélectionnez Retry (Réessayer) et suivez les instructions affichées à l'écran pour résoudre l'erreur.
Alignement	La position de la Flow Cell empêche l'imagerie.	Suivez les instructions affichées à l'écran pour recharger la Flow Cell.

Plateau pour recueillir les fuites

Un plateau se trouve à la base de l'instrument pour recueillir les fuites de réactifs ou de réfrigérant et le trop-plein des flacons de réactifs usagés. Normalement, ce plateau est sec. Les fuites indiquent un problème dans l'instrument, et un trop-plein survient lorsque les flacons de réactifs usagés ne sont pas vidés régulièrement.

Lors de la vérification avant analyse, les capteurs décèlent la présence ou non de liquides dans le plateau :

• Si le plateau contient des liquides, mais qu'il n'est pas plein, l'analyse peut être effectuée, mais vous devez communiquer avec l'assistance technique Illumina.

Destiné à la recherche uniquement.

- Si le plateau est plein, l'analyse ne peut pas être effectuée, et vous devez communiquer avec l'assistance technique Illumina.
- Videz les flacons de réactifs usagés à chaque analyse. Les analyses s'arrêtent lorsque l'un des flacons de réactifs usagés est plein. Un trop-plein d'un des gros flacons de réactifs usagés endommage l'instrument, nécessite la visite d'un représentant Illumina et présente un risque pour la sécurité.

Dépannage des problèmes de gestion du processus

Le tableau ci-dessous présente les options de dépannage pour l'icône N/A (Sans objet) de l'écran Process Management (Gestion du processus) :

- L'icône N/A (Sans objet) s'affiche dans la colonne BaseSpace et l'analyse est configurée de sorte que les données soient téléchargées dans BaseSpace Sequence Hub.
- L'icône N/A (Sans objet) s'affiche dans la colonne Network (Réseau) et l'analyse est configurée de sorte que les données soient téléchargées dans un fichier de sortie sur le réseau.

État de l'analyse	Mesure à prendre
Une analyse est en	Fermez l'écran Process Management (Gestion du processus), attendez
cours	environ 5 minutes, puis rouvrez l'écran.
Une analyse n'est	Fermez l'instrument et redémarrez-le, puis rouvrez l'écran Process
pas en cours	Management (Gestion du processus).

Si l'icône N/A (Sans objet) s'affiche toujours après ces étapes de dépannage, contactez l'assistance technique Illumina.

Échec de l'analyse avant la génération d'amplifiats

Si le logiciel ne réussit pas à effectuer l'analyse avant le début de la génération d'amplifiats, vous pouvez conserver les cartouches de réactifs, le tube de bibliothèques (y compris l'échantillon) et, si elle est utilisée immédiatement, la Flow Cell, pour une nouvelle analyse. Lorsque la génération d'amplifiats commence, les dispositifs d'aspiration percent les opercules en aluminium et les réactifs sont transférés au tube de bibliothèques et à la Flow Cell. Les consommables et les bibliothèques ne peuvent donc pas être utilisés pour une autre analyse.

Vous avez deux options pour configurer une nouvelle analyse qui utilisera les cartouches de réactifs, le tube de bibliothèques et la Flow Cell conservés après l'échec de l'analyse :

 Configuration immédiate d'une nouvelle analyse : configurez la nouvelle analyse dans les 4 heures suivant l'échec de l'analyse. Les cartouches de réactifs, le tube de bibliothèques et la Flow Cell demeurent chargés. Pour un flux de travail NovaSeg Xp, démarrez la nouvelle série dès que possible afin d'obtenir des résultats optimaux.

Configuration ultérieure d'une nouvelle analyse : configurez la nouvelle analyse dans les trois semaines suivant l'échec de l'analyse. Les cartouches de réactifs et le tube de bibliothèques sont déchargés de l'instrument et stockés. Étiquetez les consommables réservés avec la date d'utilisation et stockez-les dans suivant les conditions d'origine.



🚺 🛛 La Flow Cell ne peut être réutilisée et doit être jetée. Contactez l'assistance technique Illumina pour obtenir une Flow Cell de remplacement.

Configuration immédiate d'une nouvelle analyse

Si l'échec de l'analyse a utilisé le flux de travail NovaSeg Xp, démarrez la nouvelle analyse dès que possible pour des résultats optimaux.

- 1. Lorsqu'une analyse échoue et que l'autre côté de l'instrument est inactif, redémarrez l'instrument. Autrement, cliquez sur Home (Accueil).
- 2. Configurez une nouvelle analyse.
- 3. Ne déplacez pas la Flow Cell.
- 4. Ouvrez et fermez la porte du réfrigérant pour réactifs et le tiroir de tampon pour demander au NVCS de lire de nouveau les données RFID de la cartouche de réactifs. Les cartouches, le tube de bibliothègues et la Flow Cell peuvent rester dans l'instrument pendant un maximum de 4 heures après l'échec de l'analyse.
- 5. Videz les flacons de réactifs usagés, si nécessaire, et remettez-les dans l'instrument.
- 6. Passez à la configuration de l'analyse.

Configurer une nouvelle série ultérieurement

- 1. En cas d'échec de l'exécution, sélectionnez Home (Accueil).
- 2. Configurez une nouvelle série ou un lavage de maintenance pour libérer les consommables de l'instrument.
- Lorsque vous y êtes invité, retirez et stockez les consommables suivants :
 - Bouchez le tube de bibliothèques et stockez-le à une température comprise entre -25 °C et -15 °C pendant trois semaines au maximum.
 - Replacez les cartouches SBS et d'amplification dans leur lieu de stockage maintenu entre -25 °C et-15 °C.
 - Remettez la cartouche de tampon à température ambiante à l'abri de la lumière. Si elles ne sont pas percées, les cartouches peuvent être réutilisées dans une nouvelle série.
- 4. Sélectionnez End (Fin) pour annuler le cycle ou le lavage de maintenance, puis sélectionnez Yes (Oui) pour confirmer la commande.

Vous pouvez laisser le lavage de maintenance se terminer au lieu de l'annuler.

Destiné à la recherche uniquement.

Arrêt d'une série

L'arrêt d'une analyse sur le système NovaSeq 6000 est une action *définitive*. Le logiciel ne peut pas reprendre l'analyse ni enregistrer les données de séquençage, et les consommables ne peuvent pas être réutilisés.

- Cliquez sur End (Arrêter), puis cliquez sur Yes (Oui) pour confirmer la commande.
 Si l'analyse est arrêtée après la lecture 1, le logiciel lance le lavage automatique après analyse.
- 2. Si le logiciel vous le demande, faites votre choix parmi les options de lavage suivantes :
 - End Run Without Wash (Arrêter l'analyse sans réaliser un lavage) : Arrêter l'analyse et lancer un lavage de maintenance.
 - End Run and Wash (Arrêter l'analyse et réaliser un lavage) : Arrêter l'analyse et effectuer un lavage automatique après analyse.
 - **Cancel** (Annuler) : Poursuivre l'analyse en cours.

Si l'analyse est arrêtée après la génération d'amplifiats et avant la lecture 1, le logiciel affiche les options de lavage. Autrement, le logiciel lance le lavage automatique après analyse.

3. Si vous avez choisi l'option End Run Without Wash (Arrêter l'analyse sans réaliser un lavage), suivez les instructions du logiciel pour réaliser le lavage de maintenance.

Arrêt de l'instrument

L'arrêt de l'instrument permet d'arrêter en toute sécurité tous les logiciels et systèmes, et coupe l'alimentation de l'instrument. La barre d'état passe du vert au blanc, indiquant que l'arrêt est en cours.

Normalement, l'arrêt de l'instrument n'est pas nécessaire.

Un arrêt complet de l'instrument et une mise sous doivent être effectués chaque fois qu'un logiciel plante.

Si un arrêt ou un redémarrage est initié alors que le NVCS est en cours d'exécution, l'utilisateur doit confirmer cette action avant que l'arrêt ou le redémarrage puisse continuer.

- 1. Dans le Main Menu (menu principal), sélectionnez Shutdown Instrument (Arrêter l'instrument).
- 2. Une fois l'écran vide, mettez l'interrupteur d'alimentation situé à l'arrière de l'instrument en position off (arrêt).
- 3. Attendre au moins 60 secondes avant de rallumer l'instrument.
 - Ne pas déplacer l'instrument. Un déplacement inapproprié peut avoir une incidence sur l'alignement optique et compromettre l'intégrité des données. Pour obtenir de l'aide sur la relocalisation, contactez votre représentant Illumina.

Real-Time Analysis

Aperçu de Real-Time Analysis

Le NovaSeq 6000 Sequencing System exécute RTA3, une version du logiciel Real-Time Analysis, à partir de son propre moteur de calcul (CE). RTA3 extrait les intensités des images reçues de la caméra, effectue les définitions des bases, associe un score de qualité à chaque définition des bases, effectue l'alignement à PhiX et élabore les rapports dans les fichiers InterOp pour un affichage dans Sequencing Analysis Viewer.

Pour optimiser le délai de traitement, RTA3 conserve les données en mémoire. Si RTA3 est arrêté, le traitement ne reprend pas et les données de la série en cours de traitement dans la mémoire sont perdues.

Les entrées RTA3

RTA3 nécessite les images des plaques contenues dans la mémoire locale du système aux fins du traitement. RTA3 reçoit l'information sur l'analyse et des commandes de NVCS.

Sorties RTA3

Les images de chaque canal de couleur passent de la mémoire à RTA3 sous forme de plaques. À l'aide de ces images, RTA3 produit un ensemble de fichiers de filtrage et de fichiers de définition des bases dont la qualité est notée. Toutes les autres données de sortie sont des données complémentaires des principaux fichiers de sortie.

Type de fichiers	Description
Fichiers de définition des bases	Chaque plaque analysée est incluse dans un fichier de définition des bases concaténé (*.cbcl). Les plaques de la même ligne et de la même surface sont rassemblées dans un fichier *.cbcl pour chacune des lignes et des surfaces.
Fichiers de filtrage	Chaque plaque produit, un fichier de filtrage (*.filter) qui précise si un amplifiat a franchi les filtres.
Fichiers d'emplacement des amplifiats	Les fichiers de localisation des amplifiats (*.locs) contiennent les coordonnées X,Y de chaque amplifiat dans une plaque. Un fichier d'emplacement d'amplifiat est généré pour chaque série.

Les fichiers de sortie sont utilisés pour l'analyse en aval dans BaseSpace Sequence Hub. Vous pouvez également utiliser le logiciel de conversion bcl2fastq pour les solutions de conversion FASTQ et

d'analyse tierces. Les fichiers NovaSeq nécessitent le logiciel de conversion bcl2fastq2 v2.19 ou une version ultérieure. Pour la dernière version de bcl2fastq2, consultez la page de téléchargements de bcl2fastq sur le site Web Illumina.

RTA3 donne des mesures en temps réel sur la qualité de l'analyse, stockées dans des fichiers InterOp, qui sont des fichiers de sortie binaires contenant des mesures relatives aux plaques, aux cycles et au niveau de lecture. L'affichage des mesures en temps réel à l'aide de Sequencing Analysis Viewer nécessite des fichiers InterOp. Pour la dernière version de Sequencing Analysis Viewer, consultez la page de téléchargement de Sequencing Analysis Viewer sur le site Web Illumina.

Gestion des erreurs

RTA3 crée des fichiers journaux et les enregistre dans le dossier Logs (Journaux). Les erreurs sont enregistrées dans un format de fichier texte (*.log).

Les fichiers journaux suivants sont transférés vers leur emplacement final de sortie à la fin du traitement :

- info_00000.log résume les activités d'analyse importantes.
- error_00000.log répertorie les erreurs survenues au cours d'une analyse.
- warning_00000.log répertorie les avertissements reçus au cours d'une analyse.

Plaques de la Flow Cell

Les plaques sont de petites zones d'imagerie sur la Flow Cell. La caméra prend une image de chaque témoin, que le logiciel divise en plaques aux fins du traitement par RTA3. Le nombre total de plaques dépend du nombre de lignes, de témoins et de surfaces qui sont imagés sur la Flow Cell.

- Les Flow Cell SP possèdent un total de 312 plaques.
- Les Flow Cell S1 possèdent un total de 624 plaques.
- Les Flow Cell S2 possèdent un total de 1 408 plaques.
- Les Flow Cell S4 possèdent un total de 3 744 plaques.

Composants de la Flow Cell	SP	S1	S2	S4	Description
Lignes	2	2	2	4	Une ligne est un canal physique possédant
					des ports d'entrée et de sortie.

Tableau 13 Plaques de la Flow Cell

Destiné à la recherche uniquement.

Composants de la Flow Cell	SP	S1	S2	S4	Description
Surfaces	1	2	2	2	Les Flow Cell S2 et S4 sont imagées sur deux surfaces : les surfaces inférieure et supérieure. La surface supérieure de la plaque est imagée en premier. La Flow Cell SP est imagée sur deux surfaces : les surfaces inférieure et supérieure.
Témoins par ligne	2	2	4	6	Un témoin est une colonne d'une ligne de la Flow Cell que la caméra saisit dans une seule image.
Plaques par témoin	78	78	88	78	Une plaque est une partie d'un témoin qui montre une zone imagée sur la Flow Cell.
Nombre total de plaques générées	312	624	1408	3744	Lignes × surfaces × témoins × plaques par témoins = nombre total de plaques.

Dénomination des plaques

Le numéro de la plaque est composé de cinq chiffres qui représentent la position sur la Flow Cell. Par exemple, le numéro de plaque

1_1205 indique la ligne 1, la surface du haut, le témoin 2 et la plaque 5.

- Le premier chiffre représente la ligne :
 - 1 ou 2 pour une Flow Cell SP, S1 ou S2.
 - 1, 2, 3 ou 4 pour une Flow Cell S4.
- Le deuxième chiffre représente la surface : 1 pour le haut et 2 pour le bas.

Pour la Flow Cell SP, le deuxième chiffre est toujours 2, car cette Flow Cell n'a qu'une surface inférieure.

- Le troisième chiffre représente le témoin :
 - 1 ou 2 pour une Flow Cell SP ou S1.
 - 1, 2, 3 ou 4 pour une Flow Cell S2.
 - 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 pour une Flow Cell S4.
- Les deux derniers chiffres représentent le numéro de plaque. La numérotation des plaques commence à 01 à l'extrémité de sortie de la Flow Cell et va jusqu'à 88 ou 78 à l'extrémité d'entrée.
 - 01 à 78 pour une Flow Cell SP, S1 ou S4.
 - 01 à 88 pour une Flow Cell S2.

Destiné à la recherche uniquement.

Flux de travail de Real-Time Analysis

Enregistrement	Enregistre l'emplacement de chaque amplifiat sur la Flow Cell structurée.
Extraction des intensités	Détermine une valeur d'intensité pour chaque amplifiat.
Correction de la mise en phase	Corrige les effets de la mise en phase et de la mise en préphase.
Définition des bases	Détermine une définition des bases pour chaque amplifiat.
Notation de la qualité	Attribue un score de qualité à chaque définition des bases.

Enregistrement

La fonction d'enregistrement aligne une image au réseau hexagonal de nanopuits sur la Flow Cell structurée. En raison de l'arrangement ordonné des nanopuits, les coordonnées X et Y sont prédéterminées pour chaque amplifiat dans une plaque. Les positions des amplifiats de chaque analyse s'inscrivent dans un même fichier d'emplacement des amplifiats (s.locs).

S'il y a échec d'enregistrement d'une image d'un cycle, aucune définition des bases ne sera générée pour cette plaque dans ce cycle. Utilisez Sequencing Analysis Viewer (Visionneuse de série de séquençage) pour identifier les images dont l'enregistrement a échoué.

Extraction des intensités

Après l'enregistrement, la fonction d'extraction des intensités calcule une valeur d'intensité pour chaque nanopuits dans une image donnée. Si l'enregistrement échoue, l'intensité de la plaque ne peut pas être extraite.

Correction de la mise en phase

Lors de la réaction de séquençage, chaque brin d'ADN dans un amplifiat s'étend d'une base par cycle. La mise en phase et la mise en préphase ont lieu lorsqu'un brin est déphasé par rapport au cycle d'incorporation en cours.

- La mise en phase se produit lorsqu'un brin a un retard d'une base.
- La mise en préphase se produit lorsqu'un brin a une avance d'une base.

Figure 32 Mise en phase et en préphase



- A. Lecture avec une base présentant une mise en phase
- B. Lecture avec une base présentant une mise en préphase.

RTA3 corrige les effets de la mise en phase et de la mise en préphase, ce qui maximise la qualité des données à chaque cycle tout au long de la série.

Définition des bases

La définition des bases détermine une base (A, C, G ou T) pour chaque amplifiat d'une plaque donnée d'un cycle spécifique. Le NovaSeq 6000 Sequencing System utilise un séquençage à deux canaux, qui ne nécessite que deux images pour encoder les données de quatre bases d'ADN, une provenant du canal rouge et une autre du canal vert.

L'absence de définition est indiquée par la lettre N. Il n'y a aucune définition lorsqu'un amplifiat ne passe pas le filtre, que l'enregistrement échoue ou que l'amplifiat se trouve hors de l'image.

Les intensités de chaque amplifiat sont extraites de l'image rouge et de l'image verte, puis sont comparées l'une à l'autre, ce qui donne quatre populations distinctes. Chaque population correspond à une base. Le processus de définition des bases détermine à quelle population appartient chaque amplifiat.

Figure 33 Visualisation de l'intensité des amplifiats



Base	Canal rouge	Canal vert	Résultats
A	1 (allumé)	1 (allumé)	Amplifiats montrant une intensité tant dans le canal rouge que dans le canal vert.
С	1 (allumé)	0 (éteint)	Amplifiats montrant une intensité seulement dans le canal rouge.
G	0 (éteint)	0 (éteint)	Amplifiats ne montrant d'intensité dans aucun emplacement d'amplifiat connu.
Т	0 (éteint)	1 (allumé)	Amplifiats montrant une intensité seulement dans le canal vert.

Tableau 14 Définition des bases dans le séquençage à deux canaux

Amplifiats passant le filtre

Au cours de l'analyse, RTA3 filtre les données brutes pour supprimer les lectures non conformes au seuil de qualité des données. Les amplifiats qui se chevauchent et ceux de mauvaise qualité sont supprimés.

Dans le cas d'une analyse sur deux canaux, RTA3 utilise un système basé sur une population pour déterminer la pureté (mesure de la pureté de l'intensité) d'une définition des bases. Les amplifiats franchissent le filtre (PF) lorsqu'une définition des bases ou moins, au cours des 25 premiers cycles, a une pureté inférieure à un seuil déterminé. L'alignement PhiX est réalisé au cycle 26 dans un sousensemble de plaques pour les amplifiats ayant passé le filtre. Les amplifiats qui ne passent pas le filtre ne servent pas à la définition des bases et ne sont pas alignés.

Scores de qualité

Un score de qualité, ou Q-score, est une prévision de la probabilité d'une définition des bases erronée. Un score de qualité plus élevé suppose qu'une définition des bases est de plus haute qualité et plus susceptible d'être correcte. Une fois le score de qualité établi, les résultats sont enregistrés dans des fichiers de définition des bases (*cbcl).

Le score de qualité communique de manière concise les probabilités de petites erreurs. Les scores de qualités sont représentés sous la forme Q(X), où X est le score. Le tableau suivant montre la relation entre le score de qualité et la probabilité d'une erreur.

Score de qualité Q(X)	Probabilité d'une erreur
Q40	0,0001 (1 sur 10 000)
Q30	0,001 (1 sur 1 000)
Q20	0,01 (1 sur 100)
Q10	0,1 (1 sur 10)

Destiné à la recherche uniquement.

Notation de la qualité et rapports

La notation de la qualité calcule un ensemble d'indicateurs prévisionnels pour chaque définition des bases, puis utilise ces valeurs pour rechercher un score de qualité dans un tableau de qualité. Les tableaux de qualité servent à fournir des indicateurs de qualité extrêmement précis pour des séries générées par une configuration spécifique de plateforme de séquençage et de version de chimie.



La notation de la qualité s'appuie sur une version modifiée de l'algorithme Phred.

RTA3 attribue à chaque définition des bases l'un des trois scores de qualité en fonction de la confiance de la définition des bases. Ce modèle de rapport sur les scores de qualité réduit les besoins d'espace de stockage et de bande passante sans nuire à la précision ni à la performance.

Pour plus d'informations sur le score de qualité, se reporter à *Scores de qualité du système NovaSeq*[™] 6000 et du logiciel RTA3 (pub. n° 770-2017-010).

Destiné à la recherche uniquement.

Dossiers et fichiers de sortie

Structure des dossiers de sortie de séquençage

Le NVCS génère automatiquement le nom du dossier de sortie.

Config : paramètres de configuration de l'analyse.

Logs : fichiers journaux décrivant les étapes de fonctionnement, les étapes des analyses sur l'instrument et les évènements de RTA3.

🚞 Data

🚞 Intensities

🚞 BaseCalls

LOO[X] : fichiers de définition des bases (*.cbcl), rassemblés dans un fichier par ligne, par surface et par cycle.

- s.locs: fichier d'emplacement des amplifiats de l'analyse.
- **InterOp** : fichiers binaires utilisés par Sequencing Analysis Viewer.
- **Recipe** : fichier de formule propre à l'analyse.
- 🛅 Thumbnail Images : images miniatures générées après chaque tranche de 10 plaques.
- **LIMS** : fichier de configuration (*.json), s'il y a lieu.
- RTA3.cfg
- RunInfo.xml
- RunParameters.xml
- RTAComplete.txt
- E CopyComplete.txt
- E SampleSheet.csv: feuille d'échantillon ou autre fichier joint, le cas échéant.
- E SequenceComplete.txt

Fichiers de sortie de séquençage

Type de fichiers	Description, emplacement et nom des fichiers
Fichiers de définition des bases	Chaque amplifiat analysé est compris dans un fichier de définition des bases ; ces fichiers sont rassemblés dans un fichier pour chaque cycle, chaque ligne et chaque surface. Le fichier rassemblé contient la définition des bases ainsi que le score de qualité codé associé à chaque amplifiat. Les fichiers de définition des bases concaténées sont utilisés par BaseSpace Sequence Hub ou bcl2fastq2. Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, par exemple L001_1.cbcl
Fichiers d'emplacement des amplifiats	Pour chaque Flow Cell, un fichier d'emplacement des amplifiats binaire comprend les coordonnées XY des amplifiats sur la plaque. Une disposition hexagonale qui concorde avec l'emplacement des nanopuits de la Flow Cell prédéfinit les coordonnées. Data\Intensities s_[lane].locs
Fichiers de filtrage	Le fichier de filtrage spécifie si un amplifiat a franchi les filtres. Les fichiers de filtrage sont générés au cycle 26 et portent sur 25 cycles de données. Un fichier de filtrage est généré pour chaque plaque. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane]_[tile].filter
Fichiers InterOp	Fichiers de rapports binaires utilisés pour Sequencing Analysis Viewer. Les fichiers InterOp sont mis à jour tout au long de la série. Dossier InterOp
Fichier de renseignements sur la série	Indique le nom de l'analyse, le nombre de cycles à chaque lecture, si la lecture est une lecture d'index et le nombre de témoins et de plaques sur la Flow Cell. Le fichier de renseignements sur la série est créé au début de la série. [Root folder], RunInfo.xml
Fichiers des miniatures	Lorsque cette option est activée, une image miniature pour chaque tranche de 10 plaques pour chaque canal de couleur (rouge et vert). Thumbnail_Images\L001\C[X.1]: les fichiers sont stockés dans un sous- dossier pour chaque cycle. s_[lane]_[tile]_[channel].jpg: l'image miniature comprend le numéro de la plaque.

Sécurité Windows

Exigences relatives au mot de passe

Le tableau suivant identifie les politiques de mot de passe requises pour l'ordinateur de commande. Le logiciel vous invite à modifier votre mot de passe lors de votre première connexion.

Politique	Paramètres de sécurité
Appliquer l'historique des mots de passe	5 mots de passe mémorisés
Durée de vie maximale du mot de passe	180 jours
Durée de vie minimale du mot de passe	0 jours
Longueur minimale du mot de passe	10 caractères
Le mot de passe doit répondre à des exigences de complexité	Désactivé
Stockez les mots de passe en utilisant un chiffrage réversible	Désactivé

Tableau 15 Politiques relatives aux mots de passe par défaut

Pare-feu Windows

Le pare-feu Windows protège l'ordinateur de commande en filtrant le trafic entrant pour éliminer les menaces potentielles. Le pare-feu est activé par défaut pour bloquer toutes les connexions entrantes. Maintenez le pare-feu activé et autorisez les connexions sortantes. Reportez-vous au *Guide de préparation du site de NovaSeq Series (document n° 100000019360)* pour plus d'informations sur les connexions sortantes.

Boîte à outils Enhanced Mitigation Experience Toolkit

La boîte à outils EMET (Enhanced Mitigation Experience Toolkit) empêche l'exploitation des vulnérabilités logicielles et fournit la fonctionnalité Certificat d'autorité. La fonctionnalité détecte et arrête les attaques qui utilisent des certificats malveillants.

Software Restriction Policies

Les politiques de restriction des logiciels Windows (SRP) utilisent des règles pour permettre uniquement l'exécution d'un logiciel spécifié. Pour le NovaSeq 6000, les règles SRP sont basées sur les certificats, les noms de fichiers, les extensions de fichiers et les répertoires. Par défaut, SRP est activé pour empêcher l'exécution de logiciels indésirables sur l'ordinateur de contrôle. Un représentant informatique ou un administrateur système peut ajouter et supprimer des règles pour personnaliser le niveau de sécurité. Si le système est ajouté à un domaine, l'objet de politique de groupe (GPO) local peut modifier automatiquement les règles et désactiver la SRP.



La désactivation de la politique de restriction logicielle bloque la protection qu'elle fournit. La modification des règles remplace les protections par défaut.

Règles SRP autorisées

Sur le NovaSeq 6000 Sequencing System, SRP autorise par défaut les règles suivantes.

Certificats DigitalSystems Illumina, Inc. NovaSeq Fichiers exécutables Portmon.exe Procmon.exe

Procmon64.exe Tcpview.exe

Extensions de fichier

- *.bin
- *.cbcl
- *.cfg
- *.config
- *.csv
- *.dat
- *.focus
- *.imf1
- *.ims
- *.jpg
- *.json
- *.lnk
- *.locs
- *.log
- *.manifest
- *.sdf
- *.tif
- *.txt
- *.xml

Document n° 100000019358 v18

Destiné à la recherche uniquement.

Répertoires

```
%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\*
```

Ajout et suppression de règles SRP

Ajoutez et supprimez des règles SRP pour personnaliser la sécurité du système. La modification des règles nécessite la désactivation temporaire du SRP. Pour obtenir des instructions sur l'ajout et la suppression de règles SRP, consultez la section *Sécurité et mise en réseau*.

Considérations relatives au mode de recherche NovaSeq 6000Dx

Introduction

Le système de séquençage NovaSeq 6000Dx dispose de deux modes de fonctionnement distincts : le mode de diagnostic *in vitro* (DIV) et le mode de recherche uniquement (RUO). En mode RUO, vous pouvez créer une série manuellement ou choisir une série préplanifiée à partir de plusieurs sources.

Illumina Run Manager est une fonctionnalité de NovaSeq 6000Dx Instrument uniquement. Pour obtenir des instructions sur la création d'une série planifiée dans Illumina Run Manager ou en mode DIV, reportez-vous au *Documentation sur NovaSeq 6000Dx Instrument (réf. document 200010105)*.

En mode manuel RUO, les instructions de ce guide s'appliquent à l'instrument NovaSeq 6000Dx, sauf dans les cas suivants :

- Compatibilité des consommables
- Indicateurs de mode de l'instrument
- Procédures de lavage de maintenance

Options de planification de la série NovaSeq 6000Dx

Il existe plusieurs options pour planifier une série sur le NovaSeq 6000Dx Instrument.

- **Manuel** : saisissez manuellement les informations de la série. Disponible uniquement lorsque l'instrument est en mode RUO. Consultez la section *Configurez une série de séquençage* à la page 55.
- LIMS : sélectionnez une série à partir d'un serveur LIMS ou d'un LIMS basé sur des fichiers. Disponible uniquement lorsque l'instrument est en mode RUO. Consultez la section *Exécuter les modes de configuration* à la page 30.
- Illumina Run Manager : planifiez une série sur le Serveur DRAGEN en utilisant Illumina Run Manager. Disponible en mode DIV ou RUO. Pour plus d'informations sur cette méthode, le Serveur DRAGEN et le Illumina Run Manager, reportez-vous au et au *Documentation sur NovaSeq 6000Dx Instrument* (réf. document 200010105).

Compatibilité des consommables NovaSeq 6000Dx

L'exécution d'une série de séquençage sur l'instrument NovaSeq 6000Dx nécessite une trousse NovaSeq 6000 à usage unique ou une trousse NovaSeq 6000Dx, une cartouche de tampon et un tube de bibliothèques. Vous pouvez utiliser des consommables NovaSeq 6000Dx pour un cycle en mode RUO (Destiné à la recherche uniquement). Les NovaSeq 6000 consommables ne peuvent pas être utilisés pour un cycle en mode DIV (Diagnostic In Vitro).

Indicateurs de mode de l'instrument NovaSeq 6000Dx

Le NovaSeq 6000Dx Instrument comporte un bouton de basculement sur l'écran d'accueil qui peut être utilisé pour basculer entre le mode RUO (Destiné à la recherche uniquement) et le mode DIV (Diagnostic In Vitro). Lorsque le NovaSeq 6000Dx Instrument passe en mode RUO, utilisez les boutons radio pour sélectionner le mode planifié ou le mode manuel.

Le tableau suivant répertorie les indicateurs de mode de l'instrument sur l'écran d'accueil.

Mode	Barre de couleurs	
Mode DIV	Gris	
Mode RUO	Bleu	

Ressources et Références

Les pages d'assistance NovaSeq sur le site d'assistance Illumina fournissent des ressources supplémentaires. Consultez toujours les pages d'assistance pour connaître les dernières versions.

Historique des modifications

Document	Date	Description de la modification
Matériau n° 20023471 Document n° 1000000019358 v18	Avril 2025	Mise à jour des références aux informations sur les comptes du système d'exploitation. Ajout d'une recommandation indiquant que les cartouches SBS et d'amplification peuvent être recongelés jusqu'à une fois après décongélation. Ajout de conseils de dépannage pour les erreurs de défaut de chargement de la Flow Cell. Ajout de conseils pour inspecter les cartouches SBS à la recherche de fissures lors de leur retrait de l'emballage.
Matériau n° 20023471 Document n° 1000000019358 v17	Septembre 2022	Ajout des considérations relatives au mode de recherche NovaSeq 6000Dx.
Matériau n° 20023471 Document n° 1000000019358 v16	Juin 2022	Suppression des instructions incorrectes de préparation de la cartouche d'amplification.
Matériau n° 20023471 Document n° 1000000019358 v15	Mai 2022	 Ajout : informations sur Illumina Connected Analytics. La vérification du vide préalable. Clarification du fait que le DPX3 est compatible avec les trousses de réactif v1.0 et 1.5.
Matériau n° 20023471 Document n° 1000000019358 v14	Septembre 2020	Mise à jour des références des trousses disponibles pour refléter les offres actuelles de trousses de réactifs v1.0 et v1.5.

Destiné à la recherche uniquement.

Document	Date	Description de la modification
Matériau n° 20023471 Document n° 1000000019358 v13	Juillet 2020	Ajout d'informations à l'appui de la trousse NovaSeq 6000 Reagent v1.5 et du logiciel v1.7, qui permet une ventilation métrique par ligne dans certains champs de données de métriques de série.
Matériau n° 20023471 Document n° 1000000019358 v12	Février 2020	Déplacement des informations de dénaturation et de dilution vers le nouveau Guide de dénaturation et de dilution NovaSeq 6000 (document n° 100000106351).
Matériau n° 20023471 Document n° 1000000019358 v11	Février 2019	Mise à jour du tableau de Plexité du groupe de bibliothèques pour le flux de travail Xp.
Matériau n° 20023471 Document n° 1000000019358 v10	Janvier 2019	Ajout d'informations sur la Flow Cell SP. Mise à jour des tableaux de plexité recommandés du groupe de bibliothèques pour les flux de travail Standard et Xp.
Matériau n° 20023471 Document n° 1000000019358 v09	Novembre 2018	Correction du lien vers la page de support NovaSeq 6000. Avertissement manquant corrigé.

Destiné à la recherche uniquement.

Document	Date	Description de la modification
Matériau n° 20020483 Document n° 1000000019358 v08	Septembre 2018	 Ajout d'informations sur la trousse NovaSeq 6000 S4 (200 cycles). Ajout d'informations sur le compte utilisateur. Ajout de concentrations de charge de cellule unique. Mise à jour des instructions pour le démarrage échelonné des séries. Mise à jour des instructions de connexion à BaseSpace. Mise à jour des instructions de vérification préalable à la série. Ajout de remarques sur l'exigence de confirmation de l'arrêt ou du redémarrage. Ajout d'une remarque sur le lavage incomplet après l'analyse. Clarification des informations de lavage de maintenance. Clarification des informations de mise à jour du logiciel.

Document	Date	Description de la modification
Matériau n° 20020483 Document n° 100000019358 v07	Avril 2018	Clarification de l'utilisation du tube de bibliothèques pour mélanger les réactifs à l'étape de stimulation avant le séquençage. Ajout d'un tableau de descriptions des symboles pour les symboles sur les consommables ou l'emballage des consommables. Ajout d'informations sur le service de surveillance Illumina Proactive dans la section Configuration des modes de séquençage. Ajout d'informations sur l'API LIMS NovaSeq. Mise à jour des descriptions du logiciel vers Logiciel de commande NovaSeq v1.4.0 Mise à jour du nombre type de lectures passant le filtre pour les Flow Cell S2. Mise à jour des concentrations de charge recommandées pour le flux de travail NovaSeq Xp. Mise à jour des instructions d'ouverture de l'emballage de la Flow Cell. Clarification de la procédure de chargement des bibliothèques sur la Flow Cell. Ajout d'une remarque sur la disponibilité de l'instrument pour le démarrage d'un lavage de maintenance. Ajout d'informations sur le compte à rebours de démarrage échelonné. Mise à jour des instructions sur la façon d'ajouter ou de supprimer des règles SRP.

Document	Date	Description de la modification
Document n° 100000019358 v06	Février 2018	Ajout d'une remarque dans la section Flow Cell pour indiquer que la version logicielle 1.3.1 est requise lors de l'utilisation d'une Flow Cell S1. Mise à jour des descriptions et du volume standard dans le tableau <i>Méthodes de chargement de bibliothèques</i> . Ajout l'avertissement dans la section <i>Composants de la trousse de réactif</i> . Ajout de tubes de 0,5 et 1,5 ml, de cônes de pipettes pour pipettes de 20, 200, 1 000 µl au tableau Consommables. Ajout du cylindre gradué au tableau Équipement. Ajout de la section <i>Préparation de la Flow Cell</i> dans les chapitres 4 et 5, déplacement des étapes du chapitre 6 vers ces sections. Mise à jour du volume total pour la Flow Cell S1 au chapitre 4. Ajout du tableau Plexité recommandée du groupe de bibliothèques dans la section <i>Créer un groupe de biblioth</i> èques normalisé au chapitre 4. Mise à jour des étapes <i>Décongeler les cartouches</i> <i>SBS et d'amplification</i> aux Chapitres 4 et 5. Clarification des instructions de décongélation dans <i>Préparer la Flow Cell</i> . Mise à jour des informations sur la décongélation dans <i>Concentrations de charge recommandées</i> <i>pour NovaSeq Xp</i> . Mise à jour du tableau Plexité recommandée du groupe de bibliothèques dans la section <i>Créer un</i> <i>groupe de biblioth</i> èques dans la section créer un <i>groupe de biblioth</i> èques normalisé au chapitre 5. Ajout d'une phrase indiquant que la Flow Cell doit être utilisée dans les 12 heures suivant son retrait de l'emballage dans les sections <i>Résumé du flux de</i> <i>travail NovaSeq Xp</i> . et <i>Préparer la Flow Cell</i> .

Document	Date	Description de la modification
Document n° 100000019358 v05	Décembre 2017	Ajout d'une clarification sur le tube de bibliothèques vide pour Xp dans le diagramme du flux de travail de séquençage. Dans Dénaturer la bibliothèque et contrôle de l'option PhiX pour le flux de travail Standard, mise à jour des volumes Tris-HCl dans le tableau de l'étape 5. Dans Préparer le mélange maître ExAmp pour le flux de travail NovaSeq Xp, ajout d'une remarque après l'étape 4 pour indiquer qu'un vortex est nécessaire afin d'obtenir les meilleurs résultats. Dans Charger les bibliothèques sur la Flow Cell pour le flux de travail NovaSeq Xp, ajout d'un rappel après l'étape 3 pour charger les échantillons lentement.
Matériau n° 20023471 Document n° 100000019358 v04	Octobre 2017	Ajout du chargement par ligne individuelle à la liste des fonctions de l'instrument. Consommables - ajout de la NovaSeq Xp trousse à 2 lignes et de la NovaSeq Xp trousse à 4 lignes. Ajout du lot de collecteurs à 2 lignes NovaSeq Xp et du lot de collecteurs à 4 lignes NovaSeq. Équipement : ajout de la station de la Flow Cell NovaSeq Xp et de la pipette P200 pour le flux de travail NovaSeq Xp. Ajout d'un chapitre Préparation des consommables pour le flux de travail NovaSeq Xp Déplacement des flacons de réactif usagé vides du chapitre Séquençage au début des chapitres Flux de travail standard NovaSeq et Flux de travail NovaSeq Xp. Mise à jour du tableau Concentration de la bibliothèque groupée et du tableau Concentration de charge recommandée pour le flux de travail standard.

Document	Date	Description de la modification
Matériau n° 20020483 Document n° 100000019358 v03	Septembre 2017	Mise à jour des descriptions logicielles vers Logiciel de commande NovaSeq v1.2, qui inclut la prise en charge des Flow Cell S1 et S4. Ajout des exigences d'espace de disque pour une série à double Flow Cell pour les Flow Cell S1 et S4. Spécification de l'exigence de dénomination pour certains fichiers *.json. Informations générales sur les trousses réorganisées dans un chapitre <i>Trousses et accessoires</i> . Ce chapitre couvre les configurations, les composants et l'étiquetage de compatibilité pour les trousses de chargement de réactif et de bibliothèque. Ajout du Trousse de réactifs NovaSeq 6000 Reagent aux consommables fournis par l'utilisateur. Mise à jour des instructions de groupement et dénaturation de la bibliothèque pour inclure des informations sur les Flow Cell S1 et S4. Mise à jour des instructions relatives à la décongélation des cartouches de réactifs pour exiger un bain-marie de quatre heures pour S1 et S2 et un bain-marie de quatre heures pour S4. Mise à jour des descriptions du tube de bibliothèques, des cartouches de réactifs et des Flow Cell pour inclure les composants S4. Ajout d'une section sur les mises à jour automatiques du logiciel dans le chapitre Maintenance. Remplacement de la référence à <i>Réduction de</i> <i>l'empreinte de stockage de données du génome</i> <i>entier (pub. n° 970-2012-013) par Comparaison de</i> <i>la qualité des données NovaSeq Series et HiSeq X</i> <i>Ten (Pub. n° 770-2017-010).</i> Ajout d'une remarque à l'étape 3 de la section Saisir <i>les paramètres de la série</i> du chapitre 6. Mise à jour de la section <i>Plaques de Flow Cell</i> pour inclure les informations de plaque S1 et S4.

Document	Date	Description de la modification
Matériau n° 20018871 Document n° 100000019358 v02	Avril 2017	 Ajout des informations suivantes : Illumina-consommables fournis requis pour une série. Conditions de stockage des composants de la trousse de réactif. Recommandations pour la concentration de chargement de la bibliothèque. Dilution NaOH pour deux Flow Cell. Étape pour amener la Flow Cell à température ambiante avant le chargement. Étape de changement de gants après avoir vidé les flacons de réactif usagés. Configuration de la sortie LIMS pour les systèmes LIMS tiers. Convention de dénomination pour les feuilles d'échantillons. Icônes de gestion des processus et dépannage. Annexe contenant les fonctionnalités de sécurité Windows et les instructions de configuration. Coordonnées pour l'assistance technique. Augmentation du temps de décongélation de la cartouche de réactif à 4 heures. Mise à jour des instructions gour nettoyer la Flow Cell t l'étape de la Flow Cell uniquement lorsque des particules sont visibles. Mise à jour de la Flow Cell uniquement lorsque des particules sont visibles. Mise à jour de la fréquence des lavages de maintenance tous les 14 jours. Instructions de préparation des consommables réorganisées et consolidées pour améliorer la continuité. Renommées portes à la française en portes de compartiment à liquide.

Document	Date	Description de la modification
Matériau n° 20018406 Document n° 1000000019358 v01	Mars 2017	Correction du nom d'une colonne sur l'écran Process Management (Gestion du processus) en Sequencing (Séquençage).
Matériau n° 20015871 Document n° 1000000019358 v00	Février 2017	Publication initiale.

Destiné à la recherche uniquement.



Illumina, Inc. 5200 Illumina Way San Diego, Californie 92122 États-Unis +(1) 800 809 ILMN (4566) +(1) 858 202 4566 (en dehors de l'Amérique du Nord) techsupport@illumina.com www.illumina.com

Destiné à la recherche uniquement.

Ne pas utiliser dans le cadre d'examens diagnostiques.

© 2025 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

illumina