

illumina®

# NovaSeq 6000

Guia do sistema de sequenciamento

PROPRIEDADE DA ILLUMINA

Documento n.º 1000000019358 v18

Abril de 2025

**Somente para uso em pesquisa. Não deve ser usado para fins de diagnóstico.**

Este documento e seu conteúdo são de propriedade da Illumina, Inc. e de suas afiliadas (“Illumina”) e destinam-se exclusivamente ao uso contratual de seu cliente com relação ao uso do(s) produto(s) descrito(s) neste documento e para nenhuma outra finalidade. Este documento e seu conteúdo não devem ser usados ou distribuídos para nenhuma outra finalidade nem comunicados, divulgados ou reproduzidos de nenhuma forma sem o consentimento prévio por escrito da Illumina. A Illumina não concede nenhuma licença sob seus direitos de patente, marca registrada, direitos autorais ou lei comum nem direitos semelhantes de terceiros por meio deste documento.

As instruções neste documento devem ser estrita e explicitamente seguidas por pessoal devidamente treinado e qualificado para garantir o uso adequado e seguro do(s) produto(s) descrito(s) neste documento. Todo o conteúdo deste documento deve ser lido e compreendido por completo antes da utilização de tais produtos.

**NÃO LER COMPLETAMENTE E NÃO SEGUIR EXPLICITAMENTE TODAS AS INSTRUÇÕES AQUI CONTIDAS PODE RESULTAR EM DANOS AO(S) PRODUTO(S), FERIMENTOS A PESSOAS, INCLUSIVE USUÁRIOS OU OUTROS, E DANOS A OUTROS BENS, ANULANDO TODA GARANTIA APLICÁVEL AO(S) PRODUTO(S).**

**A ILLUMINA NÃO SE RESPONSABILIZA POR QUALQUER PROBLEMA CAUSADO PELO USO INDEVIDO DO(S) PRODUTO(S) MENCIONADO(S) ACIMA (INCLUINDO PARTES SEPARADAS OU O SOFTWARE).**

© 2025 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

Todas as marcas comerciais pertencem à Illumina, Inc. ou aos respectivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

# Conteúdo

<b>Visão geral</b> .....	<b>1</b>
Introdução .....	1
Visão geral do sequenciamento .....	2
Fluxo de trabalho de sequenciamento .....	4
Componentes do instrumento .....	7
<b>Kits e acessórios</b> .....	<b>14</b>
Visão geral dos kits .....	14
Componentes do kit de reagentes .....	15
Componentes do kit NovaSeq Xp .....	20
Plataforma para lâminas de fluxo NovaSeq Xp .....	21
Materiais de consumo e equipamentos fornecidos pelo usuário .....	22
Descrições dos símbolos .....	26
<b>Configuração do sistema</b> .....	<b>28</b>
Iniciar o instrumento .....	28
Definir configurações .....	30
<b>Fluxo de trabalho padrão: Preparação de materiais de consumo</b> .....	<b>38</b>
Práticas recomendadas .....	38
Descongelar cartuchos de SBS e de cluster .....	38
Esvaziar frascos de reagente usados .....	39
Preparar a lâmina de fluxo .....	40
Agrupar e desnaturar bibliotecas para o sequenciamento .....	41
<b>Fluxo de trabalho NovaSeq Xp: Preparação de materiais de consumo</b> .....	<b>42</b>
Resumo do fluxo de trabalho NovaSeq Xp .....	42
Métodos .....	43
Descongelar cartuchos de SBS e de cluster .....	44
Esvaziar frascos de reagente usados .....	45
Prepare a lâmina de fluxo e a plataforma .....	46
Descongelar os reagentes ExAmp .....	46
Verifique a pressão de vácuo da lâmina de fluxo .....	47
Agrupar, desnaturar e carregar bibliotecas para o sequenciamento .....	48

<b>Sequenciamento</b> .....	<b>54</b>
Configurar uma execução de sequenciamento .....	54
Monitorar o andamento da corrida .....	62
Início escalonado de execuções .....	64
Excluir a execução .....	65
Remover a posição n.º 30 .....	65
Limpeza automática após a execução .....	66
<b>Manutenção</b> .....	<b>67</b>
Manutenção preventiva .....	67
Realizar uma lavagem de manutenção .....	67
Atualizações de software .....	72
<b>Solução de problemas</b> .....	<b>74</b>
Recursos de solução de problemas .....	74
Arquivos de solução de problemas .....	74
Erros de verificação antes da execução .....	75
Solução de problemas de gestão de processos .....	76
Falha de execução antes da clusterização .....	76
Encerrar uma corrida .....	78
Desligar o instrumento .....	78
<b>Real-Time Analysis</b> .....	<b>79</b>
Visão geral da Real-Time Analysis .....	79
Fluxo de trabalho do Real-Time Analysis .....	82
<b>Arquivos e pastas de saída</b> .....	<b>86</b>
Estrutura da pasta de saída de sequenciamento .....	86
Arquivos de resultado do sequenciamento .....	87
<b>Segurança do Windows</b> .....	<b>88</b>
Requisitos da senha .....	88
Firewall do Windows .....	88
Kit de ferramentas aprimorado da experiência de mitigação .....	88
Políticas de restrição de software .....	88
<b>Considerações sobre o modo de pesquisa do NovaSeq</b>	
<b>6000Dx</b> .....	<b>91</b>
Introdução .....	91
Opções de planejamento de execução do NovaSeq 6000Dx .....	91

Compatibilidade de materiais de consumo do NovaSeq 6000Dx .....	92
Indicadores de modo do instrumento NovaSeq 6000Dx .....	92
<b>Recursos e referências .....</b>	<b>93</b>
Histórico de revisões .....	93

# Visão geral

## Introdução

O sistema Illumina® NovaSeq™ 6000 reúne rendimento escalável e tecnologia de sequenciamento flexível em uma plataforma em escala de produção com a eficiência e o custo-benefício de um sistema de mesa.

## Recursos

- **Scalable sequencing** (Sequenciamento escalável) — o NovaSeq 6000 aumenta a escala até o sequenciamento em nível de produção com dados de alta qualidade para uma ampla gama de aplicações.
- **Adjustable output** (Produção ajustável) — o NovaSeq 6000 é um sistema de lâmina de fluxo dupla com uma faixa de saída ampla. Sequencie uma lâmina de fluxo ou duas lâminas de fluxo com diferentes comprimentos de leitura simultaneamente. Misture e combine quatro tipos de lâminas de fluxo e diversos tamanhos de leitura.
- **Patterned flow cell** (Lâmina de fluxo padronizada) — uma lâmina de fluxo padronizada gera clusters bem espaçados. O espaçamento reduzido entre nanoporos aumenta a densidade do cluster e a produção de dados.
- **Onboard ExAmp mixing** (Mistura ExAmp dentro do instrumento) — o NovaSeq 6000 mistura os reagentes ExAmp com a biblioteca, amplifica a biblioteca e realiza a clusterização para um fluxo de trabalho simplificado de sequenciamento.
- **Individual lane loading** (Carregamento individual de cavidades) — a plataforma da lâmina de fluxo do NovaSeq Xp permite o carregamento prévio de bibliotecas em cavidades individuais da lâmina de fluxo e reduz o volume de carregamento da biblioteca.
- **High-throughput line scanning** (Leitura de linha de alto rendimento) — o NovaSeq 6000 usa uma câmera com tecnologia de leitura bidirecional para captar rapidamente a imagem da lâmina de fluxo em dois canais de cores simultaneamente.
- **Real-Time Analysis (RTA)** — o NovaSeq 6000 usa uma implementação de RTA chamada RTA3. Esse software integrado analisa imagens e identifica bases.
- Integração com o **BaseSpace Sequence Hub** — o fluxo de trabalho de sequenciamento é integrado com o BaseSpace Sequence Hub, o ambiente de computação genômica da Illumina para análise de dados, armazenamento e colaboração. Conforme ocorre a execução, os arquivos de saída são transmitidos para o ambiente em tempo real.
- **Pronto para o LIMS BaseSpace Clarity** — aumente a eficiência operacional com rastreamento de todo o processo de amostras e reagentes, fluxos de trabalho automatizados e operação integrada de instrumentos.

- Integração com o **Illumina Connected Analytics** — o Software de Controle NovaSeq v1.8 e posterior é integrado com Illumina Connected Analytics, o ambiente de nuvem genômica do Illumina, para análise de dados, armazenamento e colaboração. Se o ICA estiver ativado em sua região, você poderá selecionar seu domínio ICA durante a configuração da corrida. Conforme ocorre a execução, os arquivos de saída são transmitidos para o ambiente em tempo real.

## Recursos adicionais

As [páginas de suporte do Sistema de sequenciamento NovaSeq 6000](#) no site Illumina disponibilizam outros recursos adicionais do sistema. Esses recursos abrangem software, treinamento, produtos compatíveis e a documentação abaixo. Verifique sempre as páginas de suporte quanto às versões mais recentes.

Recurso	Descrição
<i>Guia de conformidade e segurança da série NovaSeq (documento n.º 1000000019357)</i>	Fornecer informações sobre considerações de segurança operacional, declarações de conformidade e rotulagem de instrumentos.
<i>Guia de conformidade do Leitor RFID (documento n.º 1000000002699)</i>	Fornecer informações sobre o leitor RFID no instrumento, incluindo certificações de conformidade e considerações de segurança.
<i>Guia de primers personalizados NovaSeq Series (documento n.º 1000000022266)</i>	Fornecer informações sobre a substituição de primers de sequenciamento da Illumina por primers de sequenciamento personalizados.
<i>Guia do sistema NovaSeq 6000 (documento n.º 1000000019358)</i>	Fornecer uma visão geral dos componentes do instrumento, instruções para preparar os consumíveis de sequenciamento, instruções de operação do instrumento e procedimentos de manutenção e de solução de problemas.

## Visão geral do sequenciamento

### Clusterização

Durante a clusterização, moléculas de DNA simples são ligadas à superfície da lâmina de fluxo e amplificadas simultaneamente para formar clusters. No fluxo de trabalho padrão, o ExAmp master mix é misturado com as bibliotecas no instrumento antes da clusterização. No fluxo de trabalho NovaSeq Xp,

os reagentes ExAmp e as bibliotecas são misturados e colocados na lâmina de fluxo fora do instrumento. Os volumes variam por tipo de lâmina de fluxo e por fluxo de trabalho.

## Sequenciamento

Os clusters têm a imagem capturada por meio da leitura bidirecional e da química de sequenciamento de dois canais. A câmera utiliza sensores que detectam luzes vermelhas e verdes para gerar imagens de cada faixa e, simultaneamente, gerar imagens em vermelho e verde de toda a faixa. Depois da geração de imagem, a identificação de base é feita para os clusters dentro de cada bloco na proporção do sinal vermelho para verde para cada cluster, que é baseado no local determinado pela lâmina de fluxo padronizada. Esse processo é repetido para cada ciclo de sequenciamento.

## Análise

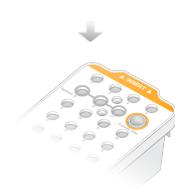
À medida que a corrida ocorre, o Software de Controle NovaSeq (NVCS) transfere automaticamente os arquivos de identificação de bases (\*.cbcl) para o local da pasta de saída especificado para a análise de dados.

Vários métodos de análise estão disponíveis e dependem de sua aplicação. Para obter mais informações, acesse a página de suporte do [BaseSpace Sequence Hub no website do Illumina](#).

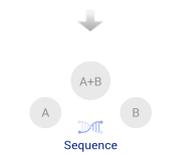
## Fluxo de trabalho de sequenciamento



Descongele os cartuchos de reagentes de SBS e cluster.



Agrupe e desnature as bibliotecas. Para o fluxo de trabalho padrão, adicione as bibliotecas ao tubo da biblioteca. Para o fluxo de trabalho NovaSeq Xp, carregue a mistura ExAmp/biblioteca na lâmina de fluxo. Para ambos os fluxos de trabalho, carregue o tubo da biblioteca no cartucho de cluster descongelado. Para mais informações, consulte [Gerador de protocolos de desnaturação e diluição](#).



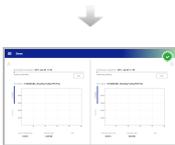
Na interface do software, selecione **Sequence** (Sequência) e especifique uma execução de lâmina de fluxo dupla ou simples.



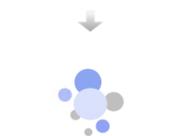
Descarregue os materiais de consumo da execução anterior e carregue os novos materiais de consumo da execução atual.



Na tela Run Setup (Configuração de execução), especifique os parâmetros de execução. Se o BaseSpace Sequence Hub estiver configurado, acesse-o na tela Log In (Login). Após a conclusão das verificações de pré-execução, a execução é iniciada automaticamente.



Monitore a execução na tela Sequence (Sequência), BaseSpace Sequence Hub, se o monitoramento de execução estiver ativado ou em um computador de rede com o Sequencing Analysis Viewer. Os dados são transferidos para a pasta de saída especificada.



Uma limpeza de instrumento começa automaticamente quando o sequenciamento é concluído.

## Métodos de carregamento das bibliotecas

As bibliotecas são carregadas em uma lâmina de fluxo NovaSeq 6000 usando um dos dois métodos a seguir, dependendo do fluxo de trabalho selecionado. A configuração de uma execução de sequenciamento é diferente para cada fluxo de trabalho. Sempre siga as instruções do seu método. Consulte [Fluxo de trabalho padrão: Preparação de materiais de consumo na página 38](#) e [Fluxo de trabalho NovaSeq Xp: Preparação de materiais de consumo na página 42](#).

Tabela 1 Métodos de carregamento das bibliotecas

Fluxo de trabalho	Método de carregamento de pool de bibliotecas e método de mixagem ExAmp	Capacidade de endereçamento de cavidades individuais e análise de dados	Volume de carga* Modos SP/S1–S2–S4 (µl)
<b>Padrão</b>	Um pool de biblioteca única é carregado no tubo de biblioteca, misturado dentro do aparelho no tubo de biblioteca com os reagentes ExAmp, e distribuído automaticamente à lâmina de fluxo para clusterização e sequenciamento. Uma etapa de melhoria antes do sequenciamento usa reagentes no cartucho de cluster e no tubo da biblioteca para criar uma mistura condicionadora que ajuda a aumentar a eficiência da clusterização.	Um único pool de bibliotecas é distribuído e sequenciado em todas as cavidades da lâmina de fluxo. As leituras de todas as cavidades são analisadas em conjunto.	150–225–465 µl (lâmina de fluxo inteira)

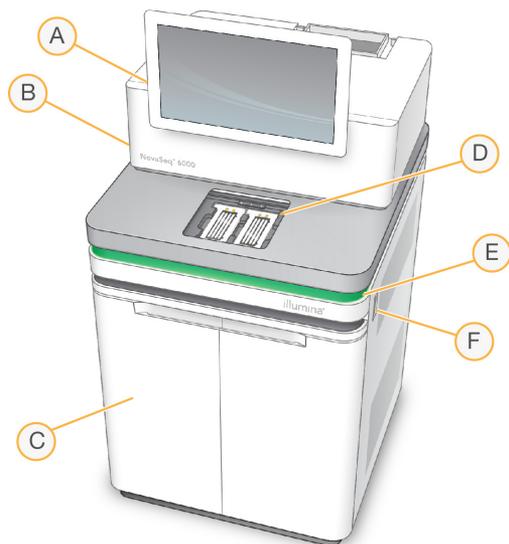
Fluxo de trabalho	Método de carregamento de pool de bibliotecas e método de mixagem ExAmp	Capacidade de endereçamento de cavidades individuais e análise de dados	Volume de carga* Modos SP/S1–S2–S4 (µl)
<b>NovaSeq Xp</b>	<p>Uma ou mais bibliotecas (o número corresponde ao número de cavidades de lâminas de fluxo) são misturadas manualmente com reagentes ExAmp fora do instrumento e diretamente carregadas nas cavidades individuais da lâmina de fluxo usando a plataforma para lâminas de fluxo NovaSeq Xp. Em seguida, a lâmina de fluxo preenchida é carregada no instrumento para clusterização e sequenciamento. Uma etapa de melhoria antes do sequenciamento usa o tubo de biblioteca vazio para misturar os reagentes do cartucho de cluster para criar uma mistura condicionadora que ajuda a aumentar a eficiência da clusterização.</p>	<p>Cada biblioteca é carregada em uma cavidade separada da lâmina de fluxo que é, então, sequenciada. Diferentes pools, alíquotas do mesmo pool ou combinações arbitrárias podem ser usadas. As leituras de diferentes cavidades são analisadas individualmente ou em conjunto, conforme for adequado.</p>	<p>27–33–45 µl (cavidade individual)</p>

\*O fluxo de trabalho NovaSeq Xp exige uma concentração de bibliotecas desnaturadas 25–50% mais baixa do que no fluxo de trabalho padrão.

## Componentes do instrumento

O Sistema de sequenciamento NovaSeq 6000 contém um monitor com tela sensível ao toque, uma barra de status, um botão liga/desliga com portas USB adjacentes e três compartimentos.

Figura 1 Componentes externos



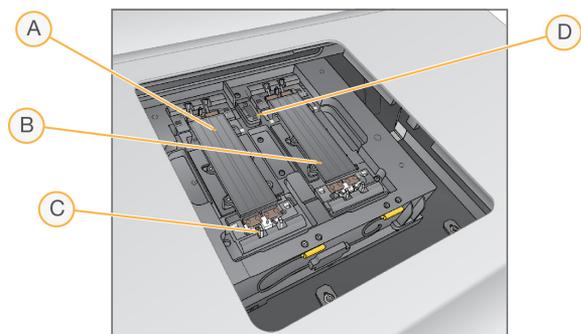
- A. **Monitor com tela sensível ao toque** — exibe a interface do NVCS para configuração do sistema e configuração e monitoramento da execução.
- B. **Compartimento óptico** — contém os componentes ópticos que permitem a geração de imagens de superfície dupla de lâminas de fluxo.
- C. **Compartimento de líquidos** — contém cartuchos de reagentes e de solução tampão e frascos para reagentes usados.
- D. **Compartimento de lâminas de fluxo** — contém as lâminas de fluxo.
- E. **Barra de status** — indica o status da lâmina de fluxo como pronta para sequenciamento (verde), em processamento (azul) ou requer atenção (laranja).
- F. **Alimentação e portas USB** — fornece acesso ao botão de energia e às conexões USB para componentes periféricos.

### Compartimento da lâmina de fluxo

O compartimento da lâmina de fluxo contém o estágio da lâmina de fluxo, que mantém a lâmina de fluxo A no lado esquerdo e a lâmina de fluxo B no lado direito. Cada lado tem quatro fixações que se posicionam automaticamente e prendem a lâmina de fluxo.

Um alvo do alinhamento óptico montado no estágio da lâmina de fluxo diagnostica e corrige problemas ópticos. Quando solicitado pelo NVCS, o alvo do alinhamento óptico realinha o sistema e ajusta o foco da câmera para melhorar os resultados de sequenciamento.

Figura 2 Estágio da lâmina de fluxo



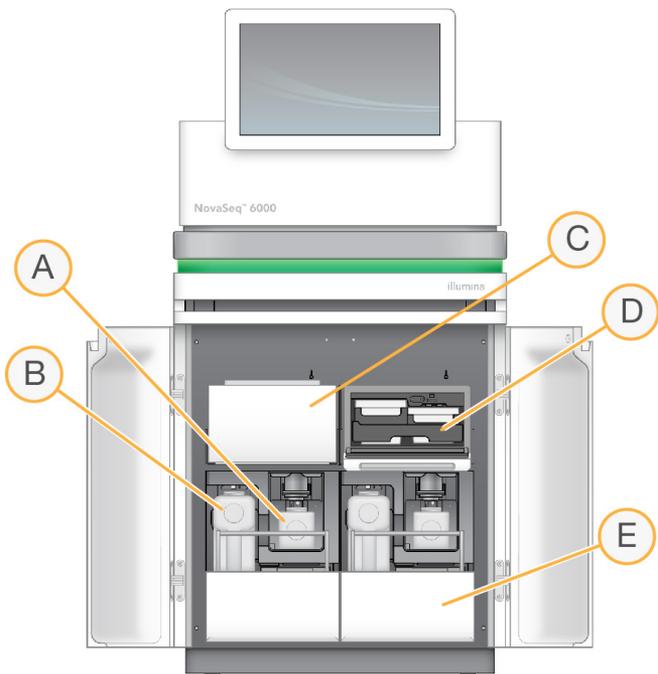
- A. Suporte da lâmina de fluxo do Lado A
- B. Suporte da lâmina de fluxo do Lado B
- C. Fixação da lâmina de fluxo (uma de quatro por lado)
- D. Alvo do alinhamento óptico

O software controla a abertura e o fechamento da porta do compartimento da lâmina de fluxo. A porta é aberta automaticamente para carregar uma lâmina de fluxo para uma execução ou limpeza de manutenção. Após o carregamento, o software fecha a porta do compartimento, move a lâmina de fluxo para a posição e ativa as fixações e o selo de vácuo. Os sensores verificam a presença e a compatibilidade da lâmina de fluxo.

## Compartimento de líquidos

A configuração de uma execução requer o acesso ao compartimento de líquidos para carregar reagentes e solução tampão e esvaziar os frascos de reagente usados. Duas portas protegem o compartimento de líquidos, que é dividido em dois lados correspondentes para a lâmina de fluxo A e a lâmina de fluxo B.

Figura 3 Componentes do compartimento de líquidos



- A. **Frasco pequeno de reagente usado** — contém os reagentes usados no cartucho de cluster, com um suporte da tampa para fácil armazenamento da tampa.
- B. **Frasco grande de reagente usado** — contém os cartuchos de SBS e de solução tampão, com um suporte da tampa para fácil armazenamento da tampa.
- C. **Refrigerador de reagentes** — refrigera os cartuchos de SBS e de cluster.
- D. **Gaveta de refrigerador de reagentes** — as posições codificadas por cores mantêm o cartucho de SBS no lado esquerdo (etiqueta cinza) e o cartucho de cluster no lado direito (etiqueta laranja).
- E. **Gaveta de tampão** — contém o frasco grande de reagente usado no lado esquerdo e o cartucho de solução tampão no lado direito.

## Reagentes usados

O sistema de fluidos se destina a encaminhar reagentes de cartucho de cluster, que são potencialmente perigosos, para o frasco pequeno de reagente usado. Os reagentes dos cartuchos SBS e de solução tampão são encaminhados para o frasco grande de reagente usado. Porém, pode ocorrer

contaminação cruzada na transmissão de reagente usado. Assuma que ambos os frascos de reagente usados contenham produtos químicos potencialmente perigosos. A ficha de dados de segurança (SDS) fornece informações detalhadas sobre os produtos químicos.

- i** | Se o sistema estiver configurado para coletar os reagentes utilizados externamente, a transmissão para o frasco grande de reagente usado será encaminhada externamente. Os reagentes do cartucho de cluster sempre vão para o frasco pequeno de reagente usado.

## Software do sistema

O pacote de software do instrumento inclui aplicativos integrados que realizam execuções de sequenciamento, análise no instrumento e funções relacionadas.

- **Software de Controle NovaSeq (NVCS)** — guia você pelas etapas para configurar uma execução de sequenciamento, controla as operações do instrumento e exibe as estatísticas conforme a execução continua. Para demonstrar o carregamento e o descarregamento adequados dos materiais de consumo, o NVCS reproduz vídeos instrutivos durante a configuração de execução.
- **Real-Time Analysis (RTA)**— realiza análise de imagem e identificação de bases durante uma execução. O NovaSeq 6000 usa RTA3, que incorpora arquitetura, segurança e outros aprimoramentos de recursos para otimizar o desempenho. Para obter mais informações, consulte [Real-Time Analysis na página 79](#).
- **Universal Copy Service (UCS)** — copia arquivos de saída de RTA3 e NVCS para a pasta de saída durante uma execução. Se aplicável, o serviço também transfere dados para BaseSpace Sequence Hub. Se o Serviço de cópia universal for interrompido durante uma execução, ele fará várias tentativas para reconectar e restabelecer a transferência de dados automaticamente.

## Ícones de status

Um ícone de status na interface do NVCS indica o status da execução. Um número no ícone indica o número de condições para um status.

Quando um status de execução muda, o ícone pisca para alertar você. Selecione o ícone para visualizar uma descrição da condição. Selecione **Acknowledge** (Reconhecer) para limpar a mensagem e, em seguida, **Close** (Fechar) para fechar a caixa de diálogo.

Tabela 2 Ícones de status NVCS

Ícone de status	Nome do status	Descrição
	Status OK	O sistema está normal.

Ícone de status	Nome do status	Descrição
	Processando	O sistema está em processamento.
	Advertência	Ocorreu uma advertência e é necessária atenção. Advertências não interrompem uma execução nem exigem uma ação antes de continuar.
	Erro	Ocorreu um erro. Erros requerem uma ação antes de continuar a execução.

## Gerenciamento de processos

A tela Process Management (Gerenciamento de processos) fornece acesso ao Mecanismo de computação (CE) e à unidade C. Use a tela para monitorar o progresso da execução, excluir execuções e gerenciar o espaço em disco, de alguma forma. Nunca apague arquivos e pastas diretamente da unidade C.

A tela Process Management (Gestão de Processos) exibe o espaço em disco disponível, o espaço utilizado no CE e na unidade C e o status das corridas que estão utilizando espaço em disco. As colunas Run Date (Data da execução) e Run Name (Nome da execução) identificam cada execução. As colunas Run Status (Status de execução), BaseSpace e Network (Rede) mostram o status de cada processo para uma execução.

Tabela 3 Ícones de status da gestão de processos

Processo	Ícone	Descrição
<b>Status da corrida</b>	 Executando	A execução está em andamento.
	 Concluído	A execução concluiu o sequenciamento.

Processo	Ícone	Descrição
Rede	 Copiando	Os arquivos estão sendo copiados para a pasta de saída na rede.
	 Concluído	Todos os arquivos foram copiados para a pasta de saída na rede.
	N/A	Não aplicável porque a execução não está configurada para fazer o upload para uma pasta de saída na rede ou o status de upload é desconhecido. Para solucionar problemas, consulte <a href="#">Solução de problemas de gestão de processos na página 76</a> .
Em nuvem	 Carregando	Os arquivos estão sendo enviados para a opção de hospedagem em nuvem selecionada.
	 Concluído	Todos os arquivos são carregados para a opção de hospedagem em nuvem selecionada.
	N/A	Não aplicável porque a execução não está configurada para fazer upload para a nuvem ou o status de upload é desconhecido. Para solucionar problemas, consulte <a href="#">Solução de problemas de gestão de processos na página 76</a> .

## Requisitos mínimos de espaço

Antes do início da execução de uma lâmina de fluxo, devem ser atendidos os requisitos mínimos de espaço do CE e unidade C.

**i** | Para execuções de lâmina de fluxo simples, os requisitos mínimos de espaço são a metade dos indicados na tabela a seguir.

Tabela 4 Requisitos mínimos de espaço para CE e C:\ para execuções de lâminas de fluxo duplas

Lâmina de fluxo	Espaço do CE por ciclo (Gb)	Espaço do C:\ por par de lâminas de fluxo (Gb)
SP	0,5	5
S1	1,35	20
S2	2,7	20
S4	4,3	40

Para calcular o espaço total necessário no CE para a execução, multiplique o requisito mínimo de espaço do CE por ciclo pela soma dos valores de comprimento de Leitura 1, Leitura 2, Índice 1 e Índice 2 (consulte [Digitar parâmetros da corrida na página 59](#)). Por exemplo, para uma execução de 150 ciclos tipo paired-end de lâmina de fluxo dupla S4 em que ambos os índices têm comprimento de 8 bases, o espaço exigido no CE é 1,37 Tb.

Para obter informações sobre a limpeza do disco rígido, consulte [Excluir a execução na página 65](#).

# Kits e acessórios

## Visão geral dos kits

Realizar uma execução no NovaSeq 6000 requer um Kit de reagentes NovaSeq 6000. O fluxo de trabalho do NovaSeq Xp também exige um kit NovaSeq Xp. Esses kits estão disponíveis nas configurações a seguir.

Para obter uma lista completa dos itens necessários para uma execução, consulte [Materiais de consumo e equipamentos fornecidos pelo usuário na página 22](#).

Tabela 5 Configurações do kit

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

## Identificação de compatibilidade

Para identificar os componentes compatíveis do kit, as lâminas de fluxo e os cartuchos são etiquetados com símbolos que apresentam o modo do kit: **SP**, **S1**, **S2** ou **S4**. Os coletores do NovaSeq Xp oferecem suporte para vários modos e são identificados como de 2 cavidades (para lâminas de fluxo SP, S1 e S2) ou 4 cavidades (para lâminas de fluxo S4).

Componentes com diferentes modos não podem ser usados na mesma execução. Por exemplo, não combine cartuchos S1 com uma lâmina de fluxo S2.

Não é permitido misturar cartuchos SBS/CPE v1.0 e cartuchos v1.5. Caso isso seja feito, será gerada uma mensagem de erro.

Modo do kit	Marcação no rótulo	Descrição
Componentes do kit SP		A lâmina de fluxo SP gera 650 a 800 milhões de leituras únicas que passam pelo filtro com produção de até 250 Gb a 2 x 150 bp e de até 400 Gb a 2 x 250 bp.
Componentes do kit S1		A lâmina de fluxo S1 gera até 1,6 bilhão de leituras únicas que passam pelo filtro com produção de até 500 Gb a 2 x 150 bp. O kit S1 oferece o sequenciamento rápido de menos amostras para as aplicações de mais alto rendimento.
Componentes do kit S2		A lâmina de fluxo S2 gera até 4,1 bilhões de leituras únicas que passam pelo filtro com produção de até 1250 Gb a 2 x 150 bp. É uma versão de duas faixas da lâmina de fluxo. A lâmina de fluxo S2 oferece sequenciamento rápido para a maioria das aplicações de alto rendimento, com um número maior de leituras que uma lâmina de fluxo S1 para mais saída de sequenciamento.
Componentes do kit S4		A lâmina de fluxo S4 gera até 10 bilhões de leituras únicas que passam pelo filtro com produção de até 3000 Gb a 2 x 150 bp. É uma versão de quatro cavidades da lâmina de fluxo, projetada para saída máxima. Ela possibilita um sequenciamento econômico de genoma completo em uma variedade de espécies e profundidades de cobertura.

A [página do produto](#) dos Sistema de sequenciamento NovaSeq 6000 no site da Illumina oferece especificações detalhadas de cada modo.

## Componentes do kit de reagentes

Cada kit de reagentes NovaSeq 6000 contém os seguintes componentes. Cada componente usa identificação por radiofrequência (RFID) para obter compatibilidade e um rastreamento de materiais de consumo preciso.

Quando receber seu kit, armazene prontamente os componentes na temperatura indicada para assegurar o desempenho apropriado.

Tabela 6 Componentes do kit

Quantidade	Componente do kit	Temperatura de armazenamento
1	Tubo da biblioteca	15 °C a 30 °C
1	Lâmina de fluxo	2 °C a 8 °C
1	Cartucho de solução tampão	15 °C a 30 °C
1	Cartucho de cluster	-25 °C a -15 °C
1	Cartucho de SBS	-25 °C a -15 °C

**!** Evite que os cartuchos caiam. Pode ocorrer lesão se for derrubado. Pode ocorrer irritação cutânea se houver vazamento dos cartuchos. Inspecione os cartuchos antes de usar quanto à existência de rachaduras.

## Tubo da biblioteca

O tubo da biblioteca NovaSeq 6000 é um tubo de 16 mm que se encaixa na posição n.º 8 do cartucho de cluster. A posição n.º 8 é rotulada **Library Tube** (Tubo da biblioteca) e exibe um círculo laranja para facilitar a identificação. O tubo tem uma tampa rosqueada que permite o armazenamento de bibliotecas quando for necessário. Certifique-se de que a tampa tenha sido removida antes do carregamento no cartucho de cluster.

Figura 4 Tubo da biblioteca



O tubo da biblioteca é usado de duas maneiras, dependendo do fluxo de trabalho:

- **Padrão** — bibliotecas agrupadas e desnaturadas são adicionadas ao tubo da biblioteca, que é então carregado destampado no cartucho de cluster. Após o início da corrida, o instrumento mistura as bibliotecas com reagentes ExAmp no tubo da biblioteca e, em seguida, elas são transferidas automaticamente para a lâmina de fluxo.
- **NovaSeq Xp** — o tubo da biblioteca destampado e vazio é carregado no cartucho de cluster. Durante a execução, os reagentes são misturados no tubo da biblioteca antes da distribuição para a lâmina de fluxo.

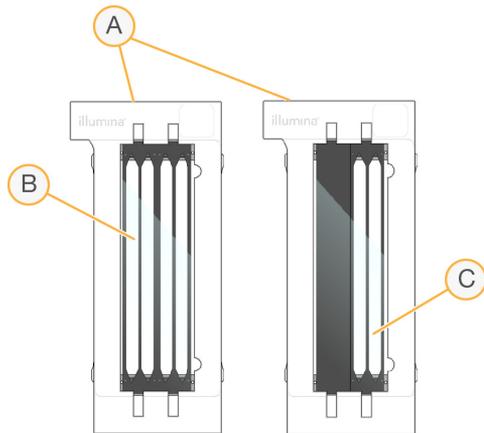
## Lâmina de fluxo

A lâmina de fluxo do NovaSeq 6000 é uma lâmina de fluxo em padrão revestida por um cartucho. A lâmina de fluxo é um substrato com base em vidro que contém bilhões de nanoporos em um arranjo ordenado, aumentando o número das leituras de saída e os dados de sequenciamento. Os clusters são gerados nos nanoporos, nos quais é, então, realizado o sequenciamento.

Cada lâmina de fluxo tem várias cavidades para fazer o sequenciamento de bibliotecas em pool. As lâminas de fluxo SP, S1 e S2 possuem duas cavidades cada e a lâmina de fluxo S4 possui quatro. Cada cavidade é captada em várias faixas e, em seguida, o software divide a imagem de cada faixa em porções menores chamadas de blocos. Para obter mais informações, consulte [Blocos da lâmina de fluxo na página 80](#).

**i** | Se você estiver usando uma lâmina de fluxo S1, deverá usar o NVCS v1.3.1 ou posterior. Se você estiver usando uma lâmina de fluxo SP, deverá usar o NVCS v1.6 ou posterior.

Figura 5 Lâminas de fluxo

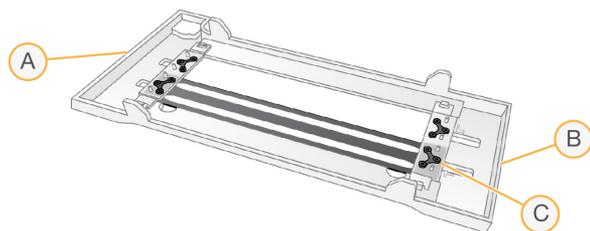


- A. Cartucho da lâmina de fluxo
- B. Lâmina de fluxo de quatro cavidades (S4)
- C. Lâmina de fluxo de duas cavidades (SP, S1 e S2)

O lado inferior de cada lâmina de fluxo tem quatro juntas. As bibliotecas e os reagentes entram nas cavidades da lâmina de fluxo através das juntas situadas na extremidade de entrada da lâmina de fluxo. Os reagentes usados são expelidos das cavidades através das juntas situadas na extremidade de saída.

**i** | Evite tocar nas juntas ao manusear a lâmina de fluxo.

Figura 6 Lâmina de fluxo invertida



- A. Extremidade de saída
- B. Extremidade de entrada
- C. Junta (uma de quatro)

## Cartuchos de solução tampão, de cluster e de SBS

Os cartuchos de solução tampão, de cluster e de SBS do NovaSeq 6000 têm reservatórios com selo de alumínio pré-carregados com reagentes, soluções tampão e solução de limpeza. Um cartucho de cada tipo é incluído no kit de reagentes.

Os cartuchos são carregados diretamente no instrumento, codificados por cores e rotulados para reduzir os erros de carregamento. As guias no refrigerador do reagente e as gavetas de solução tampão garantem a orientação adequada.

O rótulo do cartucho de reagente inclui os modos compatíveis, como S1/S2 ou SP/S1/S2. Os cartuchos só podem ser usados para os modos indicados no rótulo.

Tabela 7 Cartuchos de reagentes

Cartucho	Descrição
Cartucho de solução tampão do NovaSeq 6000	Pré-carregado com soluções tampão de sequenciamento e pesa até 6,8 kg. Uma alça de plástico facilita o transporte, o carregamento e o descarregamento. Reentrâncias na parte superior da chapa permitem que os cartuchos sejam empilhados.



Cartucho	Descrição
<p data-bbox="156 254 448 323">Cartucho de cluster do NovaSeq 6000</p> 	<p data-bbox="528 254 1350 405">Pré-carregado com reagentes do tipo paired-end, de clusterização e de indexação, além de solução de limpeza. Inclui uma posição destinada ao tubo da biblioteca. A rotulagem cor de laranja distingue o cartucho de cluster do cartucho deSBS.</p>
<p data-bbox="156 562 416 632">Cartucho de SBS do NovaSeq 6000</p> 	<p data-bbox="528 562 1369 793">Pré-carregado com reagentes de sequenciamento em volumes específicos para o número de ciclos que o kit suporta (500, 300, 200, 100 ou 35). Cada uma das 28 posições de reagente tem uma posição adjacente reservada para a limpeza após a execução automática. A rotulagem cinza diferencia o cartucho de SBS do cartucho de cluster.</p>

## Reservatórios de cartuchos de cluster

### Reservatório removível

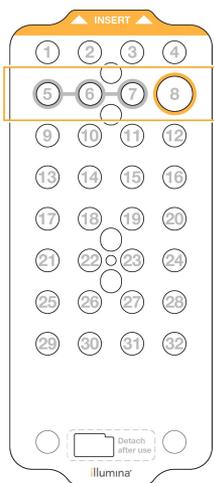
Um reagente de desnaturação na posição 30 contém formamida, que é uma amida orgânica e uma toxina reprodutiva. Para facilitar a eliminação segura de qualquer reagente não utilizado após a execução de sequenciamento, esse reservatório é removível.

**i** | Não empilhe o cartucho de SBS na parte superior do cartucho de cluster, que pode soltar a posição n.º 30.

### Reservatórios reservados

Três reservatórios são dedicados para primers personalizados e uma posição vazia é dedicada para o tubo da biblioteca. Para a rastreabilidade de amostra, o tubo da biblioteca é carregado no cartucho de cluster durante a configuração de execução e permanece com o cartucho até o final da execução.

Figura 7 Reservatórios numerados



Posição	Reservada para
5, 6 e 7	Primers personalizados opcionais
8	Tubo da biblioteca

Para obter mais informações sobre primers personalizados, consulte *Guia de primers personalizados NovaSeq Series (documento n.º 1000000022266)*.

## Componentes do kit NovaSeq Xp

Cada kit de reagentes NovaSeq Xp é de uso único e contém os componentes a seguir. Quando receber seu kit, armazene prontamente os componentes na temperatura indicada para assegurar o desempenho apropriado.

**i** | Os materiais de consumo DPX1 e DPX2 podem ser identificados como JPX1 e JPX2. Ambos são compatíveis com kits de reagentes v1.0 ou v1.5. O DPX3 também é compatível com kits de reagentes v1.0 e v1.5.

Tabela 8 Componentes do kit NovaSeq Xp

Quantidade	Componente do kit	Temperatura de armazenamento
1	DPX1/JPX1	-25 °C a -15 °C
1	DPX2/JPX2	-25 °C a -15 °C
1	DPX3	-25 °C a -15 °C
1	Coletor do NovaSeq Xp	Deixe com o kit ou armazene à temperatura ambiente.

## Reagentes do kit Xp

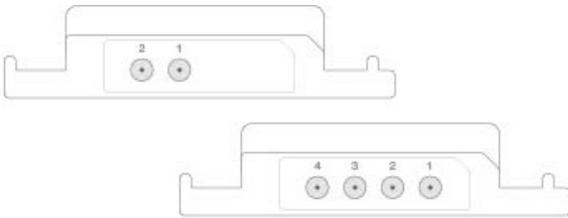
DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 e DPX3 são reagentes ExAmp fornecidos em tubos individuais para o fluxo de trabalho NovaSeq Xp. A combinação desses reagentes cria o ExAmp master mix, que é misturado com pools de bibliotecas antes do carregamento na lâmina de fluxo.

## Coletor do NovaSeq Xp

O coletor do NovaSeq Xp é colocado na plataforma da lâmina de fluxo NovaSeq Xp para permitir o carregamento direto dos pools de bibliotecas em cada cavidade de lâmina de fluxo. Os braços de cada lado do coletor do NovaSeq Xp se destinam à fácil colocação da plataforma.

NovaSeq Xp Os coletores do NovaSeq Xp são fornecidos em configurações de dois poços e quatro poços para corresponder às lâminas de fluxo de duas cavidades e quatro cavidades. Cada poço corresponde a uma cavidade da lâmina de fluxo. Como a lâmina de fluxo é carregada na plataforma da lâmina de fluxo NovaSeq Xp ao contrário, os poços são numerados da direita para a esquerda para corresponder à numeração das cavidades em uma lâmina de fluxo invertida.

Figura 8 Coletores do NovaSeq Xp com poços numerados

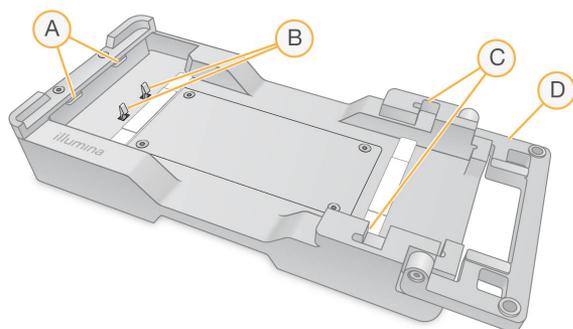


## Plataforma para lâminas de fluxo NovaSeq Xp

A plataforma para lâminas de fluxo NovaSeq Xp é um acessório reutilizável para carregar bibliotecas diretamente em uma lâmina de fluxo. A lâmina de fluxo é invertida e carregada na doca e o coletor do NovaSeq Xp é encaixado acima da lâmina de fluxo.

Duas saliências (sob o suporte) e duas molas guiam a inserção da lâmina de fluxo e garantem a orientação adequada. Ranhuras sustentam os braços do coletor do NovaSeq Xp na orientação correta e encaixados de maneira uniforme. Uma fixação magnética gira 180° para prender o coletor do NovaSeq Xp acima da lâmina de fluxo.

Figura 9 Plataforma para lâminas de fluxo NovaSeq Xp



- A. Saliências (sob o suporte) para guiar o carregamento
- B. Molas para alinhar a lâmina de fluxo
- C. Ranhuras para sustentar os braços do coletor do NovaSeq Xp
- D. Fixação para prender a lâmina de fluxo e o coletor do NovaSeq Xp

## Materiais de consumo e equipamentos fornecidos pelo usuário

Os seguintes materiais de consumo e equipamentos fornecidos pelo usuário são usados para preparação do material de consumo, sequenciamento e manutenção do sistema.

### Materiais de consumo

Material de consumo	Fornecedor	Finalidade
NaOH 1 N	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório	Diluição a 0,2 N para a desnaturação de bibliotecas.
Frasco de centrífuga, 500 ml	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório	Diluição de Tween 20 para uma limpeza de manutenção.
Tubo de centrífuga, 30 ml	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório	Diluição de NaOCl para uma limpeza de manutenção.
Luvas descartáveis, sem pó	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório	Uso geral.
Compressas com álcool isopropílico 70% ou Compressas com álcool etanol 70%	VWR, catálogo n.º 95041-714 ou equivalente Fornecedor de itens de uso comum do laboratório	Componentes de limpeza antes de uma corrida e finalidade geral.

<b>Material de consumo</b>	<b>Fornecedor</b>	<b>Finalidade</b>
Lenço para laboratório com poucos fiapos	VWR, catálogo n.º 21905-026 ou equivalente	Secagem do estágio da lâmina de fluxo e para finalidade geral.
Tubo de microcentrífuga, 1,5 ml	VWR, catálogo n.º 20170-038 ou equivalente	Combinação de volumes ao diluir NaOH e bibliotecas.
NaOCl com grau de reagente, 5%	Sigma-Aldrich, catálogo n.º 239305	Realização de uma lavagem de manutenção.
Kit de reagentes NovaSeq 6000	Illumina, consulte <a href="#">Visão geral dos kits na página 14</a>	Realização de uma execução de sequenciamento.
Pontas de pipeta, 20 µl	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório	Pipetagem para diluição e carregamento de bibliotecas.
Pontas de pipeta, 200 µl	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório	Pipetagem para diluição e carregamento de bibliotecas.
Pontas de pipeta, 1.000 µl	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório	Pipetagem para diluição e carregamento de bibliotecas.
Álcool isopropílico reagente ou de grau espectrofotométrico (99%), frasco de 100 ml	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório	Limpeza dos componentes ópticos periodicamente e apoio ao cartucho de limpeza da objetiva.
Tris-HCL, pH 7,0	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório	Bibliotecas neutralizantes desnaturadas.
Tween 20	Sigma-Aldrich, catálogo n.º P7949	Realização de uma lavagem de manutenção.
Água, aprovada para uso em laboratório	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório	Diluição de NaOH para a desnaturação de bibliotecas. Diluição de Tween 20 e de hipoclorito de sódio para uma limpeza de manutenção.
<b>[Fluxo de trabalho do NovaSeq Xp] Um dos seguintes kits:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• NovaSeq Xp Kit 2 cavidades</li> <li>• NovaSeq Xp Kit 4 cavidades</li> </ul>	Illumina: <ul style="list-style-type: none"> <li>• catálogo n.º 20021664</li> <li>• catálogo n.º 20021665</li> </ul>	Carregar bibliotecas manualmente na lâmina de fluxo: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kit de duas cavidades para lâminas de fluxo SP, S1 e S2</li> <li>• Kit de quatro cavidades para lâminas de fluxo S4</li> </ul>

<b>Material de consumo</b>	<b>Fornecedor</b>	<b>Finalidade</b>
<p>[Fluxo de trabalho do NovaSeq Xp] Um dos seguintes kits:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>NovaSeq Xp Kit 2 cavidades v1.5</li> <li>NovaSeq Xp Kit 4 cavidades v1.5</li> </ul>	<p>Illumina:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>catálogo n.º 20043130</li> <li>catálogo n.º 20043131</li> </ul>	<p>Carregar bibliotecas manualmente na lâmina de fluxo:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Kit de duas cavidades para lâminas de fluxo SP, S1 e S2</li> <li>Kit de quatro cavidades para lâminas de fluxo S4</li> </ul>
<p>[Fluxo de trabalho do NovaSeq Xp] Tubos de 0,5 ml e 1,7 ml</p>	<p>Fornecedor de itens de uso comum do laboratório</p>	<p>Necessário para mistura de ExAmp.</p>
<p>[Fluxo de trabalho do NovaSeq Xp] [Opcional] Um dos seguintes conjuntos do coletor:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>NovaSeq Xp Conjunto de coletor de 2 cavidades</li> <li>NovaSeq Xp Conjunto de coletor de 4 cavidades</li> </ul>	<p>Illumina:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>N.º de catálogo 20021666</li> <li>N.º de catálogo 20021667</li> </ul>	<p>Coletores de reposição do NovaSeq Xp para carregamento manual de bibliotecas em uma lâmina de fluxo.</p>
<p>[Opcional] PhiX Control v3</p>	<p>Illumina, n.º de catálogo FC-110-3001</p>	<p>Fazer spike-in em um controle de PhiX.</p>

## Materiais de consumo nos kits Illumina

Um Kit de reagentes NovaSeq 6000 é necessário para sequenciar uma lâmina de fluxo. Cada kit é composto por vários materiais de consumo, que estão relacionados na tabela a seguir. Para uma execução de lâmina de fluxo dupla, use dois kits.

Tabela 9 Materiais de consumo em um Kit de reagentes NovaSeq 6000

<b>Material de consumo (um de cada)</b>	<b>Finalidade</b>
Cartucho de solução tampão	Fornece soluções tampão de sequenciamento para a execução.
Cartucho de cluster	Fornece reagentes de clusterização, indexação e do tipo paired-end para a execução.
Lâmina de fluxo	A reação de clusterização e sequenciamento ocorre na lâmina de fluxo.

Material de consumo (um de cada)	Finalidade
Cartucho de SBS	Fornecer reagentes de sequenciamento para a execução.
Tubo da biblioteca	Tubo vazio usado para armazenar bibliotecas fornecidas pelo cliente, agrupadas e desnaturadas, ou para preparar a mistura condicionadora para aumentar a eficiência da clusterização no sequenciamento.

Se você estiver seguindo o fluxo de trabalho NovaSeq Xp para carregar as bibliotecas diretamente na lâmina de fluxo, suplemente cada kit de reagentes com um kit NovaSeq Xp. Cada kit NovaSeq Xp é composto dos materiais de consumo a seguir.

**i** | Os materiais de consumo DPX1 e DPX2 podem ser identificados como JPX1 e JPX2. Ambos são compatíveis com kits de reagentes v1.0 ou v1.5. O DPX3 também é compatível com kits de reagentes v1.0 e v1.5.

Tabela 10 Materiais de consumo em um kit NovaSeq Xp

Material de consumo (um de cada)	Finalidade
DPX1/JPX1	Preparação do ExAmp Master Mix.
DPX2/JPX2	
DPX3	
Coletor do NovaSeq Xp	Carregar bibliotecas na lâmina de fluxo.

## Orientações para água aprovada para uso em laboratório

Utilize sempre água aprovada para uso em laboratório ou água deionizada para realizar procedimentos com instrumentos. Nunca use água da torneira. Utilize apenas os seguintes tipos de água ou equivalentes:

- Água deionizada
- Illumina PW1
- Água de 18 Megaohms (MΩ)
- Água Milli-Q
- Água Super-Q
- Água para biologia molecular

## Equipamento

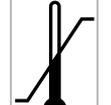
Item	Origem
Congelador, -25 °C a -15 °C	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Cilindro graduado, 500 ml, estéril	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Balde de gelo	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Pipeta, 20 µl	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Pipeta, 200 µl	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Pipeta, 1.000 µl	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Refrigerador, 2 °C a 8 °C	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Banheira, banhos-maria*	Fornecedor de itens de uso comum do laboratório
Plataforma da lâmina de fluxo [Fluxo de trabalho do NovaSeq Xp] NovaSeq Xp	Illumina, n.º de catálogo 20021663

\*Use uma banheira que possa acomodar dois cartuchos de reagentes e o nível de água apropriado. Por exemplo, (61 cm x 91,4 cm x 25,4 cm)(24 pol. x 36 pol. x 10 pol.).

## Descrições dos símbolos

A tabela a seguir descreve os símbolos localizados no material de consumo ou na sua embalagem.

Símbolo	Descrição
	A data em que o material de consumo expira. Para obter um resultado melhor, use o material de consumo antes dessa data.
	Indica o fabricante (Illumina).

Símbolo	Descrição
	O uso previsto é uso restrito em pesquisa (RUO).
	Indica o número da peça para que o material de consumo possa ser identificado. <sup>1</sup>
	Indica o código do lote para identificar o lote de fabricação do material de consumo. <sup>1</sup>
	Indica o número de série.
	Indica que é necessária proteção contra luz ou calor. Armazene protegido da luz solar.
	Indica um risco à saúde.
	Indica uma advertência de risco.
	Faixa de temperatura de armazenamento em graus Celsius. Armazene o material de consumo na faixa de temperatura indicada. <sup>2</sup>

<sup>1</sup> REF identifica o componente individual, enquanto LOT identifica o lote ao qual o componente pertence.

<sup>2</sup> A temperatura de armazenamento pode ser diferente da temperatura de transporte.

# Configuração do sistema

Quando o sistema é ligado pela primeira vez, o Software de Controle NovaSeq inicia com uma série de telas para orientar você na primeira configuração. A configuração inicial abrange uma verificação do sistema para confirmar o desempenho do instrumento e as configurações do sistema.

Caso deseje modificar as configurações do sistema após a configuração inicial, selecione o comando System Settings (Configurações do sistema) no software de controle. O comando abre as guias Settings (Configurações), Network Access (Acesso à rede) e Customization (Personalização), onde você pode acessar todas as configurações do software de controle e as configurações de rede do Windows.

## Contas do sistema operacional

Para obter informações sobre contas e senha do sistema operacional, consulte [Requisitos da senha na página 88](#) e [Segurança e rede](#).

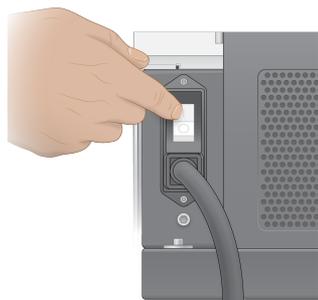
## Corridas de validação

Faça opcionalmente uma corrida de validação antes do sequenciamento experimental de bibliotecas pela primeira vez. Uma corrida de validação faz o sequenciamento de 100% de PhiX, que funciona como uma biblioteca de controle, para confirmar a operação do sistema. Para obter instruções, consulte [Sequenciamento na página 54](#).

# Iniciar o instrumento

1. Pressione o lado de ativação (|) do interruptor na parte traseira do instrumento.

Figura 10 Localização do interruptor



2. Aguarde até que o botão de energia na lateral direita do instrumento brilhe em azul e, em seguida, pressione-o.

Figura 11 Localização do botão de energia



## Contas de usuário

No NVCS v1.5 e nas versões mais recentes existem dois tipos de contas: administrador e usuário. As permissões para cada tipo de conta são mostradas na tabela a seguir.

Permissões	Administrador	Usuário
Configurar, iniciar e monitorar execuções de sequenciamento	X	X
Fazer o download e atualizar software	X	
Ver o status de uma execução ativa iniciada por outro usuário	X	
Finalizar processos de UCS que não responderem	X	

Os arquivos de dados de aplicativos são armazenados em C:/ProgramData. Os aplicativos são instalados em C:/Program Files. O NVCS é iniciado como aplicativo de tela inteira para ambos os tipos de conta.

## Fazer login no sistema

1. Quando o sistema operacional for carregado, faça login no Windows usando o nome de usuário e a senha de seu site.
2. Abra o NVCS.  
O software é iniciado e inicializa o sistema. Quando a inicialização for concluída, a tela Home (Início) será exibida. O NVCS é iniciado como um aplicativo do usuário. Se você tentar usar um recurso que requer permissões de administrador, como Atualização de software, e não estiver logado como administrador, será solicitado que você faça login como administrador.

Para permanecer informado sobre o progresso de uma execução de sequenciamento, fique conectado durante a execução do NVCS e enquanto a execução de sequenciamento estiver em andamento.

## Definir configurações

O NVCS inclui configurações para o seguinte:

- Modo de execução (manual ou com base em arquivo)
- Fluxo de trabalho NovaSeq Xp
- Hospedagem na nuvem (BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics)
- Atualizações de software

**i** | Antes de continuar a seleção do fluxo de trabalho ou as verificações automáticas das atualizações de software, configure Mode Selection (Seleção de modo).

### Modos de configuração da execução

- **Manual** (Manual) — o modo padrão que envia dados a uma pasta de saída especificada para análise posterior.
- **File-Based** (Com base em arquivo) — modo alternativo que usa arquivos do LIMS BaseSpace Clarity ou de outro sistema LIMS para definir parâmetros de execução. Para obter mais informações, consulte [Configurar a saída do LIMS na página 32](#).
- **Server-Based** (Baseado em servidor) — um modo que usa uma URL do servidor LIMS para definir parâmetros de execução.

Ao configurar o modo de configuração da execução, certifique-se de especificar um local existente para a pasta de configuração da execução. Essa pasta é obrigatória. Uma mensagem de local inválido indica que o local especificado não existe.

Todos os modos de configuração de execução incluem a opção de enviar dados para BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics para armazenamento e análise de dados.

### Configurar o modo manual

1. No menu principal, selecione **Settings** (Configurações).  
A tela Settings (Configurações) é aberta na guia Mode Selection (Seleção de modo).
2. Selecione **Manual**.
3. **[Opcional]** Digite ou procure um local de rede preferencial para a pasta de saída.  
Não especifique um local na unidade C, D ou Z. Isso causa um erro inválido na unidade.  
Esta configuração é o local padrão. O local da pasta de saída pode ser alterado para cada execução.

4. **[Opcional]** Selecione **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Enviar dados de desempenho do instrumento à Illumina) para habilitar o serviço de monitoramento Illumina Proactive. O nome da configuração na interface do software pode ser diferente do nome neste guia, dependendo da versão do NVCS em uso.

Com esta configuração ativada, os dados de desempenho do instrumento são enviados à Illumina. Esses dados ajudam a Illumina a resolver problemas com mais facilidade e detectar possíveis falhas, possibilitando a manutenção proativa e maximizando o tempo de atividade do instrumento. Para obter mais informações sobre os benefícios desse serviço, consulte a *Nota técnica do Illumina Proactive (documento N.º 1000000052503)*.

Esse serviço:

- Não envia dados de sequenciamento
- Requer que o instrumento esteja conectado a uma rede com acesso à internet
- É ativado por padrão. Para cancelar esse serviço, desabilite a configuração **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Enviar dados de desempenho do instrumento à Illumina).

5. Selecione **Save** (Salvar).

## Configurar modo com base em arquivo

1. No menu principal, selecione **Settings** (Configurações).  
A tela Settings (Configurações) é aberta na guia Mode Selection (Seleção de modo).
2. Selecione **File-Based** (Com base em arquivo).
3. Digite ou navegue até um local de rede desejado para definir a pasta de configuração de execução, que contém arquivos LIMS.  
Certifique-se de que os arquivos LIMS apropriados sejam adicionados à pasta de configuração da execução antes de configurar uma execução. Durante a configuração da execução, o software utiliza a identificação do tubo da biblioteca ou a identificação da lâmina de fluxo com a finalidade de localizar os arquivos para a execução atual.
4. **[Opcional]** Digite ou procure um local de rede preferencial para a pasta de saída.  
Não especifique um local na unidade C, D ou Z. Isso causa um erro inválido na unidade.  
O local da pasta de saída pode ser alterado para cada execução.
5. **[Opcional]** Selecione **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Enviar dados de desempenho do instrumento à Illumina) para habilitar o serviço de monitoramento Illumina Proactive. O nome da configuração na interface do software pode ser diferente do nome neste guia, dependendo da versão do NVCS em uso.  
Com esta configuração ativada, os dados de desempenho do instrumento são enviados à Illumina. Esses dados ajudam a Illumina a resolver problemas com mais facilidade e detectar possíveis falhas, possibilitando a manutenção proativa e maximizando o tempo de atividade do instrumento. Para obter mais informações sobre os benefícios desse serviço, consulte a *Nota técnica do Illumina Proactive (documento N.º 1000000052503)*.  
Esse serviço:

- Não envia dados de sequenciamento
- Requer que o instrumento esteja conectado a uma rede com acesso à internet
- É ativado por padrão. Para cancelar esse serviço, desabilite a configuração **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Enviar dados de desempenho do instrumento à Illumina).

Quando ativada, essa opção requer uma conexão de internet externa.

6. Selecione **Save** (Salvar).

## Configurar a saída do LIMS

Se seu sistema estiver configurado para o modo baseado em arquivos e você estiver usando um software LIMS diferente do LIMS BaseSpace Clarity, configure o LIMS para gerar um arquivo de configuração de execução no formato JSON. Para o fluxo de trabalho padrão, o nome do arquivo deve corresponder à identificação do tubo da biblioteca. O campo flow cell ID (identificação da lâmina de fluxo) do arquivo pode ser deixado em branco. Para o fluxo de trabalho do NovaSeq Xp, o nome do arquivo deve corresponder à identificação da lâmina de fluxo e tanto esta como a identificação da biblioteca devem ser especificadas no arquivo. O nome do arquivo e os valores não diferenciam maiúsculas de minúsculas.

Um software LIMS externo pode usar a API do LIMS do NovaSeq para interagir com o NovaSeq 6000. Entre em contato com o Suporte técnico da Illumina para obter mais informações sobre os endpoints de API ou o modo baseado em servidor LIMS.

Nome do campo	Valor
run_name	Um nome de execução preferencial, que pode conter caracteres alfanuméricos, hifens e sublinhados
run_mode	Um dos seguintes modos: <ul style="list-style-type: none"> <li>• S1</li> <li>• SP</li> <li>• S2</li> <li>• S4</li> </ul>
workflow_type	NoIndex, SingleIndex ou DualIndex
librarytube_ID	O RFID do tubo da biblioteca
sample_loading_type	NovaSeqStandard ou NovaSeq Xp
Flowcell_ID	Identificação da lâmina de fluxo
paired_end	Verdadeiro ou falso
read1	Valor até 251 (ciclos adicionais de leituras de UMI possíveis até 259)

Nome do campo	Valor
read2	Valor até 251 (ciclos adicionais de leituras de UMI possíveis até 259)
index_read1	Qualquer valor
index_read2	Qualquer valor
output_folder	O caminho para a pasta de saída com duas barras invertidas para uma sequência de escape
Planilha de amostras	O caminho para uma planilha de amostra ou outro arquivo no formato CSV (*.csv) com duas barras invertidas para uma sequência de escape
use_basespace	Verdadeiro ou falso
basespace_mode	RunMonitoringOnly ou RunMonitoringAndStorage
use_custom_read1_primer	Verdadeiro ou falso
use_custom_read2_primer	Verdadeiro ou falso
use_custom_index_read1_primer	Verdadeiro ou falso
use_custom_index_read2_primer	Verdadeiro ou falso

\* A nova hibridização não está disponível no NVCS v1.4.0 ou versões anteriores.

Exemplo: arquivo JSON nomeado como 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": true,
"read1": 151,
"read2": 151,
"index_read1": 0,
"index_read2": 0,
"output_folder": "\\s\sgnt-prd-isi01\NovaSEQ\SeqRuns",
"attachment": "\\s\sgnt-prd-isi01\NVSQ\SampleSheet.csv",
"use_basespace": false,
"basespace_mode": null,
```

```
"use_custom_read1_primer": false,
"use_custom_read2_primer": false,
"use_custom_index_read1_primer": false
}
```

## Configurar ciclos de índice padrão

Você pode configurar o número padrão de ciclos de índice do fluxo de trabalho padrão conforme mostrado a seguir.

1. No menu principal, selecione **Settings** (Configurações).  
A tela Settings (Configurações) é aberta na guia Mode Selection (Seleção de modo).
2. Selecione a guia **Workflow Selection** (Seleção de fluxo de trabalho).
3. Insira o número de ciclos de índice no campo **Index Cycles** (Ciclos de Índice).
4. Selecione **Save** (Salvar).

## Fluxos de trabalho NovaSeq padrão e NovaSeq Xp

Os fluxos de trabalho NovaSeq padrão e NovaSeq Xp usam a química ExAmp, de propriedade da Illumina.

### Fluxo de trabalho padrão

O fluxo de trabalho NovaSeq padrão automatiza duas etapas essenciais da química ExAmp, de propriedade da Illumina, dentro do instrumento.

- Preparação do ExAmp master mix
- Distribuição do Master Mix na lâmina de fluxo

A preparação e a distribuição do Master Mix dentro do instrumento minimizam a interação do usuário e reduzem a variabilidade na mistura preparada.

Como parte da configuração da execução do fluxo de trabalho padrão, um tubo de biblioteca contendo o pool de bibliotecas desnaturadas e neutralizadas na concentração recomendada é inserido na posição n.º 8 do cartucho de cluster. Para obter mais informações sobre as concentrações recomendadas, consulte o [Gerador de protocolos de desnaturação e diluição](#). Após o início da execução, as etapas subsequentes ocorrem dentro do instrumento e não necessitam de interferência do usuário. Isso abrange a transferência dos reagentes ExAmp do cartucho de cluster para o tubo de biblioteca, a preparação dos reagentes e a mistura do pool de biblioteca e a distribuição da mistura preparada para todas as cavidades da lâmina de fluxo.

Após a clusterização dentro do instrumento, é conduzida uma série de etapas comuns a ambos os fluxos de trabalho. Essas etapas incluem a aplicação de uma mistura condicionadora à lâmina de fluxo com clusterização e etapas adicionais de química para a preparação dos clusters para sequenciamento por síntese. A mistura condicionadora é preparada durante o processo de clusterização usando

reagentes no cartucho de cluster e no tubo de biblioteca inserido durante a configuração da execução. A mistura condicionadora ajuda a aumentar a eficiência da clusterização no instrumento NovaSeq 6000.

## NovaSeq Xp Fluxo de trabalho

O fluxo de trabalho NovaSeq Xp permite o carregamento de diferentes bibliotecas ou pools de bibliotecas em cavidades individuais na lâmina de fluxo NovaSeq usando a plataforma para lâminas de fluxo NovaSeq Xp e um kit de materiais de consumo específico para a lâmina de fluxo (kit NovaSeq Xp com 2 cavidades ou kit NovaSeq Xp com 4 cavidades). O kit NovaSeq Xp contém reagentes ExAmp que são necessários para a clusterização e o coletor do NovaSeq Xp, que é necessário para o carregamento na cavidade.

A mistura ExAmp/biblioteca é preparada e carregada em cavidades individuais da lâmina de fluxo usando a plataforma para lâminas de fluxo NovaSeq Xp e o coletor do NovaSeq Xp. Pode ser usado um manipulador automático de líquidos para a preparação da mistura de ExAmp/biblioteca e a distribuição ao coletor para o autoenchimento da lâmina de fluxo. Quando o carregamento da amostra da lâmina de fluxo é concluído, um tubo de biblioteca vazio é inserido na posição n.º 8 do cartucho de cluster, a lâmina de fluxo é colocada no instrumento e a execução do sequenciamento é iniciada.

Após o início da execução, é conduzida uma série de etapas comuns a ambos os fluxos de trabalho. Essas etapas incluem a aplicação de uma mistura condicionadora à lâmina de fluxo com clusterização e etapas adicionais de química para a preparação dos clusters para sequenciamento por síntese. A mistura condicionadora é preparada durante o processo de clusterização usando reagentes no cartucho de cluster e misturada no tubo de biblioteca vazio inserido durante a configuração da execução. A mistura condicionadora ajuda a aumentar a eficiência da clusterização no instrumento NovaSeq 6000.

## Configurar o fluxo de trabalho NovaSeq Xp

1. No menu principal, selecione **Settings** (Configurações).  
A tela Settings (Configurações) é aberta na guia Mode Selection (Seleção de modo).
2. Selecione a guia **Workflow Selection** (Seleção de fluxo de trabalho).
3. Para habilitar o fluxo de trabalho NovaSeq Xp, selecione **Enable Workflow Selection** (Habilitar seleção de fluxo de trabalho).
4. **[Opcional]** Para fazer com que o NovaSeq Xp seja o fluxo de trabalho padrão, selecione **NovaSeq Xp**.
5. Selecione **Save** (Salvar).

## Configurar opções de nuvem

Use as instruções a seguir para definir as configurações padrão para conexão com a nuvem. Durante a configuração de execução, você pode desativar as opções de nuvem para a execução atual ou alterar as configurações de monitoramento e armazenamento de execução. Conectar-se a BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics exige uma conexão com a internet.

1. No menu principal, selecione **Settings** (Configurações).  
A tela Settings (Configurações) é aberta na guia Mode Selection (Seleção de modo).
2. Marque a caixa de seleção **Illumina Cloud Options** (Opções de nuvem).
3. Em Configuration (Configuração), faça a seleção entre as seguintes opções:
  - **Run Monitoring and Storage** (Monitoramento e armazenamento de execuções) — envia dados de execução para a opção de hospedagem em nuvem selecionada para monitoramento remoto e análise de dados. Esta opção requer o carregamento de uma planilha de amostra com a execução.
  - **Run Monitoring Only** (Somente monitoramento de execução)— envia arquivos InterOp, de registro e outros arquivos de execução não CBCL para o BaseSpace Sequence Hub para que as execuções possam ser monitoradas remotamente.
4. No menu suspenso Hosting Location (Local de host), selecione **EU (Frankfurt)** (UE, Frankfurt) ou **USA (N. Virginia)** (EUA, norte da Virgínia).  
Essa opção determina onde os dados são carregados.
5. Se você tiver uma assinatura Enterprise para BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics, faça o seguinte.
  - a. Marque a caixa de seleção **Private Domain** (Domínio privado).
  - b. Insira o nome de domínio usado para logon único no BaseSpace Sequence Hub ou no Illumina Connected Analytics.
6. Selecione **Save** (Salvar).

## Nome da planilha da amostra

Ao executar o NVCS v1.3.1 ou anterior, uma planilha de amostra usada para execuções e carregada no BaseSpace Sequence Hub deve ser nomeada SampleSheet.csv (diferencia maiúsculas de minúsculas). Se a planilha de amostra for nomeada incorretamente e Run Monitoring and Storage (Monitoramento e armazenamento de execuções) estiver ativado, o BaseSpace Sequence Hub marcará a execução para revisão. Para enfileirar uma execução sinalizada para geração de FASTQ, selecione **More (Mais) > Fix Sample Sheet and Requeue** (Corrigir planilha de amostra e recolocar na fila) e, em seguida, insira a planilha de amostra apropriada. Até a planilha de amostra ser fornecida, os dados de sequenciamento não podem ser convertidos em arquivos FASTQ.

Se você estiver executando o NVCS v1.4 ou posterior, não existem limitações quanto aos nomes das planilhas de amostra.

Se você estiver usando o software de conversão bcl2fastq2 v2.19 ou posterior para converter dados em arquivos FASTQ localmente, será possível usar a opção de linha de comando `--sample-sheet` para especificar qualquer arquivo CSV file em qualquer local. A linha de comando permite o uso de qualquer nome de arquivo.

## Configurar atualizações de software

A verificação automática de atualizações de software está ativada por padrão. Você pode desativar ou ativar a verificação automática de atualizações em Settings (Configurações).

1. No menu principal, selecione **Settings** (Configurações).
2. Selecione **Software Update** (Atualização de software).
3. Marque a caixa de seleção **If enabled, the instrument will display a notification when a Software Updates is available** (Se estiver ativado, o instrumento exibirá uma notificação quando uma atualização de software estiver disponível).
4. Selecione **Save** (Salvar).

# Fluxo de trabalho padrão: Preparação de materiais de consumo

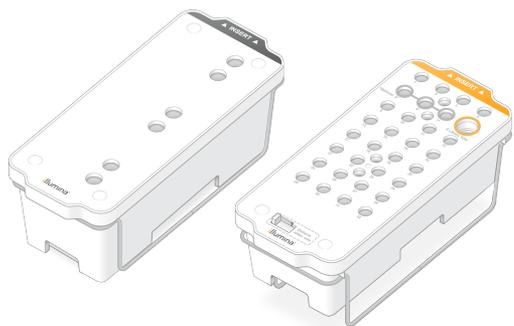
## Práticas recomendadas

- Verifique se você tem os equipamentos e os materiais de consumo necessários. Consulte [Materiais de consumo e equipamentos fornecidos pelo usuário na página 22](#).
- Sempre verifique a etiqueta ao preparar materiais de consumo para garantir a compatibilidade entre os componentes. Não misture nem combine os componentes SP, S1, S2 e S4.
- Não misture versões do kit de reagentes.
  - Os cartuchos de SBS e CPE v1.0 só devem ser emparelhados juntos.
  - Os cartuchos de SBS e CPE v1.5 só devem ser emparelhados juntos.
- Ao remover o cartucho de SBS da embalagem, inspecione-o visualmente quanto a rachaduras.
- Siga as instruções na ordem mostrada, usando os volumes, as concentrações, as temperaturas e as durações especificadas.
- A menos que um ponto de parada esteja especificado nas instruções, prossiga imediatamente para a etapa seguinte.

## Descongelar cartuchos de SBS e de cluster

1. Se uma execução de sequenciamento estiver em andamento, certifique-se de que ambos os lados do instrumento estejam disponíveis quando o descongelamento estiver concluído.
2. Remova os cartuchos de SBS e de cluster do armazenamento de -15 °C a -25 °C.
3. Coloque cada cartucho em um rack de descongelamento com fios.  
Os racks são fornecidos com o instrumento e evitam que ele vire no banho-maria.

Figura 12 Cartuchos em racks de descongelamento com fios



4. Descongele em banho-maria em temperatura ambiente (19 °C a 25 °C). Mergulhe até aproximadamente a metade.
5. Use a tabela a seguir para determinar a duração do descongelamento.

**!** Usar água quente para descongelar os reagentes pode causar redução na qualidade dos dados ou falha na corrida.

Cartucho	Duração do descongelamento
Cartucho de SBS SP, S1 e S2	4 horas
Cartucho de cluster SP, S1 e S2	Até 2 horas
Cartucho de SBS S4	4 horas
Cartucho de cluster S4	Até 4 horas

6. Seque completamente as bases do cartucho usando toalhas de papel. Seque entre os poços para que toda a água seja removida.
7. Verifique se existe água nas vedações de alumínio. Se houver água, seque com um tecido sem fiapos.
8. Inspeção o lado de baixo de cada cartucho para certificar-se de que os reservatórios estejam livres de gelo, o que indica que os reagentes estão descongelados.
9. Inverta cada cartucho dez vezes para misturar os reagentes.
10. Bata levemente na parte inferior de cada cartucho na bancada para reduzir as bolhas de ar.
11. Se os reagentes não puderem ser carregados no instrumento em 4 horas, armazene de 2°C a 8°C por até 24 horas ou retorne ao armazenamento a -25°C a -15°C. Após o descongelamento, não congele novamente mais de uma vez.

## Esvaziar frascos de reagente usados

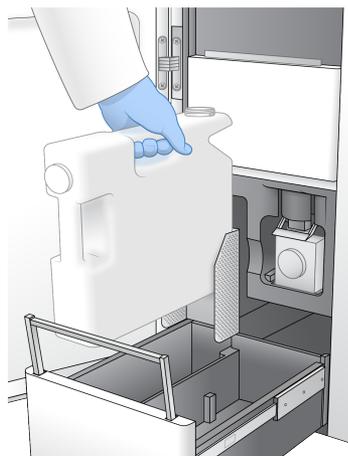
Use as seguintes instruções para esvaziar os frascos de reagente usados em *cada* execução de sequenciamento. O frasco grande deve estar no lugar.

**!** **Esse conjunto de reagentes contém produtos químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer ferimentos por meio de inalação, ingestão e contato com a pele ou com os olhos. A ventilação deve ser apropriada para o manuseio de materiais perigosos em reagentes. Use equipamento de proteção, incluindo proteção para os olhos, luvas e jaleco, apropriado para risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduo químico e descarte-os de acordo com as leis e regulamentações regionais, nacionais e locais aplicáveis.** Para obter mais informações ambientais, de saúde e de segurança, consulte a SDS em [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

1. Remova e esvazie o frasco pequeno de reagente usado conforme as instruções a seguir.
  - a. Levante a alavanca e remova da alcova o frasco pequeno de reagente usado. Segure o frasco pelos lados.

- b. Remova a tampa rosqueada do suporte da tampa na frente do frasco.
  - c. Vede a abertura do frasco com a tampa para evitar derramamentos.
  - d. Mantendo o conteúdo separado do conteúdo do outro frasco, descarte-o de acordo com as normas aplicáveis para sua região.
  - e. Devolva o frasco destampado para a alcova e, em seguida, abaixe a alavanca. Guarde a tampa no suporte da tampa.
2. Remova e esvazie o frasco grande de reagente usado conforme as instruções a seguir.
  - a. Utilizando a alça superior, remova o frasco grande de reagente usado pelo lado esquerdo da gaveta de solução tampão.
  - b. Remova a tampa rosqueada do suporte da tampa na frente do frasco.
  - c. Vede a abertura do frasco com a tampa para evitar derramamentos.
  - d. Descarte o conteúdo segundo as normas aplicáveis para sua região. Segure ambas as alças ao esvaziar.
  - e. Devolva o frasco destampado para a gaveta de solução tampão. Guarde a tampa no suporte da tampa.

Figura 13 Devolver o frasco vazio



3. Coloque um novo par de luvas sem pó.
4. Feche a gaveta de solução tampão e, em seguida, feche as portas do compartimento de líquidos.

**!** O não esvaziamento dos frascos de reagente usados pode resultar no encerramento de uma execução e em transbordamento, o que prejudica o instrumento e representa um risco de segurança.

## Preparar a lâmina de fluxo

1. Retire um novo pacote da lâmina de fluxo do armazenamento de 2 °C a 8 °C.

2. Deixe a embalagem da lâmina de fluxo fechada à temperatura ambiente por 10 a 15 minutos. Use a lâmina de fluxo em até 12 horas após a respectiva remoção do pacote.

## Agrupar e desnaturar bibliotecas para o sequenciamento

A concentração de carga pode variar dependendo dos métodos de preparação, quantificação e normalização da biblioteca. Para obter instruções, consulte [Gerador de protocolos de desnaturação e diluição](#). Quando a biblioteca agrupada estiver pronta, vá para [Preparar os cartuchos de SBS e de cluster na página 41](#).

- ! Armazene o tubo da biblioteca somente se necessário. O armazenamento de longo prazo entre -25 °C e -15 °C pode aumentar duplicados, reduzindo o rendimento.

### Preparar os cartuchos de SBS e de cluster

1. Inspecione o lado de baixo de cada cartucho para certificar-se de que os reservatórios estejam livres de gelo, o que indica que os reagentes estão descongelados.
2. Inverta cada cartucho dez vezes para misturar os reagentes.
3. Bata levemente na parte inferior de cada cartucho na bancada para reduzir as bolhas de ar.

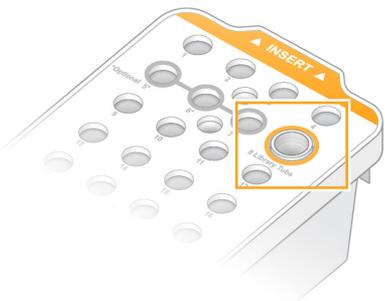
### Preparar primers personalizados

Se sua biblioteca precisar de primers personalizados, prepare-os segundo as instruções do *Guia de primers personalizados NovaSeq Series (documento n.º 1000000022266)*.

### Carregar tubo da biblioteca

1. Sem perturbar a biblioteca na parte inferior, insira o tubo da biblioteca destampado que contém o pool de bibliotecas desnaturadas e diluídas na posição do **tubo da biblioteca** (n.º 8) do cartucho de cluster.
2. Insira o tubo de biblioteca na posição n.º 8 do cartucho de cluster.

Figura 14 Tubo da biblioteca destampado carregado na posição n.º 8



# Fluxo de trabalho NovaSeq Xp: Preparação de materiais de consumo

## Resumo do fluxo de trabalho NovaSeq Xp

Antes de iniciar a preparação de amostras ou materiais de consumo, certifique-se de que a versão NVCS atende aos requisitos mínimos de software listados na tabela a seguir.

Tabela 11 Requisitos mínimos de software

Lâmina de fluxo	Versão mínima do software do kit de reagentes v1.0	Versão mínima do software do kit de reagentes v1.5
SP	1,6	1,7
S1	1.3.1	1,7
S2	Todas	1,7
S4	1.2.0	1,7

**i** | O NVCS oferece suporte ao início escalonado de novas execuções. Consulte o [Início escalonado de execuções na página 64](#).

Certifique-se de concluir todas as etapas do fluxo de trabalho NovaSeq Xp na ordem especificada.

**i** | As etapas 1 a 4 podem ser concluídas em paralelo e devem ser concluídas antes da etapa 5.

1. Descongele os cartuchos SBS e de cluster.
2. Esvazie frascos de reagente usados.
3. Coloque o pacote da lâmina de fluxo à parte por 10–15 minutos até a lâmina de fluxo atingir a temperatura ambiente. Use a lâmina de fluxo em até 12 horas após a respectiva remoção do pacote.
4. Normalize e agrupe bibliotecas e, opcionalmente, adicione o controle PhiX de acordo com o protocolo apropriado para suas bibliotecas no [Gerador de protocolos de desnaturação e diluição](#).

**i** | Execute as etapas 5 a 11 na ordem especificada.

5. Descongele os reagentes ExAmp.
6. Prepare uma diluição fresca de NaOH de acordo com o [Gerador de protocolos de desnaturação e diluição](#).
7. Desnature e neutralize o pool da biblioteca de acordo com o [Gerador de protocolos de desnaturação e diluição](#).

8. Prepare a lâmina de fluxo e a plataforma.
9. Prepare o ExAmp master mix.
10. Carregue a mistura ExAmp/biblioteca na lâmina de fluxo.
11. Carregue um tubo de biblioteca vazio na posição n.º 8 do cartucho de cluster.

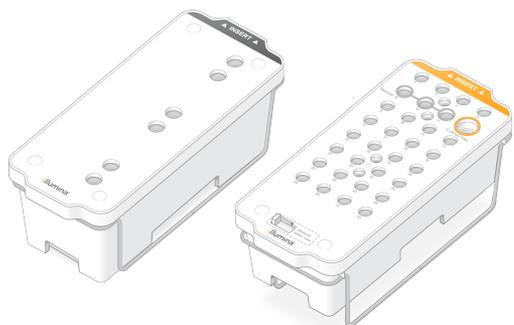
## Métodos

- Verifique se você tem os equipamentos e os materiais de consumo necessários. Consulte [Materiais de consumo e equipamentos fornecidos pelo usuário na página 22](#).
  - Certifique-se de que o instrumento esteja ligado e tenha espaço de armazenamento suficiente para a execução. Consulte [Gerenciamento de processos na página 11](#).
  - Certifique-se de que a limpeza após a execução automática em ambos os lados do instrumento esteja concluída antes de iniciar a etapa *Descongelar os reagentes ExAmp* do [Resumo do fluxo de trabalho NovaSeq Xp na página 42](#).
  - Sempre verifique a etiqueta ao preparar materiais de consumo para garantir a compatibilidade entre os componentes. Não misture componentes SP, S1, S2 e S4 ou componentes de duas cavidades e quatro cavidades em um lado do instrumento.
  - Não misture versões do kit de reagentes.
    - Os cartuchos de SBS e CPE v1.0 só devem ser emparelhados juntos.
    - Os cartuchos de SBS e CPE v1.5 só devem ser emparelhados juntos.
  - Ao remover o cartucho de SBS da embalagem, inspecione-o visualmente quanto a rachaduras.
  - Siga as instruções na ordem mostrada, usando os volumes, as temperaturas e as durações especificadas.
  - Quando não estiver misturando ativamente, coloque todos os reagentes e bibliotecas em gelo.
  - A menos que um ponto de parada esteja especificado nas instruções, prossiga imediatamente para a etapa seguinte.
  - Para iniciar o sequenciamento com sucesso em uma lâmina de fluxo de duas cavidades, ambas as cavidades devem estar cheias. Para iniciar o sequenciamento com sucesso em uma lâmina de fluxo de quatro cavidades, uma cavidade deve estar parcialmente cheia ou vazia.
  - As causas mais comuns de variações nos resultados quando os reagentes ExAmp são misturados manualmente são a distribuição inexata dos volumes dos componentes ExAmp e mistura insuficiente. Não misture de forma insuficiente.
- i** | Inicie a execução de sequenciamento imediatamente após o carregamento de bibliotecas na lâmina de fluxo, preferencialmente em até 30 minutos.

## Descongelar cartuchos de SBS e de cluster

1. Se uma execução de sequenciamento estiver em andamento, certifique-se de que ambos os lados do instrumento estejam disponíveis quando o descongelamento estiver concluído.
2. Remova os cartuchos de SBS e de cluster do armazenamento de -15 °C a -25 °C.
3. Coloque cada cartucho em um rack de descongelamento com fios.  
Os racks são fornecidos com o instrumento e evitam que ele vire no banho-maria.

Figura 15 Cartuchos em racks de descongelamento com fios



4. Descongele em banho-maria em temperatura ambiente (19 °C a 25 °C). Mergulhe até aproximadamente a metade.
5. Use a tabela a seguir para determinar a duração do descongelamento.

**!** Usar água quente para descongelar os reagentes pode causar redução na qualidade dos dados ou falha na corrida.

Cartucho	Duração do descongelamento
Cartucho de SBS SP, S1 e S2	4 horas
Cartucho de cluster SP, S1 e S2	Até 2 horas
Cartucho de SBS S4	4 horas
Cartucho de cluster S4	Até 4 horas

6. Seque completamente as bases do cartucho usando toalhas de papel. Seque entre os poços para que toda a água seja removida.
7. Verifique se existe água nas vedações de alumínio. Se houver água, seque com um tecido sem fiapos.
8. Inspeção o lado de baixo de cada cartucho para certificar-se de que os reservatórios estejam livres de gelo, o que indica que os reagentes estão descongelados.
9. Inverta cada cartucho dez vezes para misturar os reagentes.
10. Bata levemente na parte inferior de cada cartucho na bancada para reduzir as bolhas de ar.

11. Se os reagentes não puderem ser carregados no instrumento em 4 horas, armazene de 2°C a 8°C por até 24 horas ou retorne ao armazenamento a -25°C a -15°C. Após o descongelamento, não congele novamente mais de uma vez.

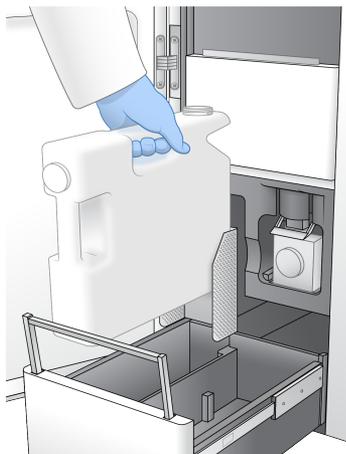
## Esvaziar frascos de reagente usados

Use as seguintes instruções para esvaziar os frascos de reagente usados em *cada* execução de sequenciamento. O frasco grande deve estar no lugar.

**!** | **Esse conjunto de reagentes contém produtos químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer ferimentos por meio de inalação, ingestão e contato com a pele ou com os olhos. A ventilação deve ser apropriada para o manuseio de materiais perigosos em reagentes. Use equipamento de proteção, incluindo proteção para os olhos, luvas e jaleco, apropriado para risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduo químico e descarte-os de acordo com as leis e regulamentações regionais, nacionais e locais aplicáveis. Para obter mais informações ambientais, de saúde e de segurança, consulte a SDS em [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).**

1. Remova e esvazie o frasco pequeno de reagente usado conforme as instruções a seguir.
  - a. Levante a alavanca e remova da alcova o frasco pequeno de reagente usado. Segure o frasco pelos lados.
  - b. Remova a tampa rosqueada do suporte da tampa na frente do frasco.
  - c. Vede a abertura do frasco com a tampa para evitar derramamentos.
  - d. Mantendo o conteúdo separado do conteúdo do outro frasco, descarte-o de acordo com as normas aplicáveis para sua região.
  - e. Devolva o frasco destampado para a alcova e, em seguida, abaixe a alavanca. Guarde a tampa no suporte da tampa.
2. Remova e esvazie o frasco grande de reagente usado conforme as instruções a seguir.
  - a. Utilizando a alça superior, remova o frasco grande de reagente usado pelo lado esquerdo da gaveta de solução tampão.
  - b. Remova a tampa rosqueada do suporte da tampa na frente do frasco.
  - c. Vede a abertura do frasco com a tampa para evitar derramamentos.
  - d. Descarte o conteúdo segundo as normas aplicáveis para sua região. Segure ambas as alças ao esvaziar.
  - e. Devolva o frasco destampado para a gaveta de solução tampão. Guarde a tampa no suporte da tampa.

Figura 16 Devolver o frasco vazio



3. Coloque um novo par de luvas sem pó.
4. Feche a gaveta de solução tampão e, em seguida, feche as portas do compartimento de líquidos.

**!** O não esvaziamento dos frascos de reagente usados pode resultar no encerramento de uma execução e em transbordamento, o que prejudica o instrumento e representa um risco de segurança.

## Prepare a lâmina de fluxo e a plataforma

1. Retire um novo pacote da lâmina de fluxo do armazenamento de 2 °C a 8 °C.
2. Deixe a embalagem da lâmina de fluxo fechada à temperatura ambiente por 10 a 15 minutos. Use a lâmina de fluxo em até 12 horas após a respectiva remoção do pacote.
3. Coloque a plataforma de lâmina de fluxo em uma superfície plana.
4. Inspecione a plataforma e certifique-se de que ela esteja livre de material particulado.

## Descongelar os reagentes ExAmp

1. Remova um tubo de cada reagente DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 e DPX3 do armazenamento de -25 °C a -15 °C.
2. Descongele em temperatura ambiente durante 10 minutos.
3. Reserve em gelo.

**i** Se você precisar congelar novamente reagentes ExAmp que não foram abertos, faça isso imediatamente depois de descongelá-los. Os reagentes ExAmp só podem ser congelados novamente uma vez. Resíduos de reagentes não podem ser congelados nem combinados.

## Verifique a pressão de vácuo da lâmina de fluxo

Verifique o vácuo da lâmina de fluxo da seguinte forma.

1. No menu principal, selecione **Tools** (Ferramentas).
2. Selecione **Flow Cell Vacuum** (Vácuo da lâmina de fluxo).
3. Selecione o(s) lado(s) aplicável(is) em que a(s) lâminas(s) de fluxo serão carregadas (Side A, Side B, or Both [Lado A, Lado B ou Ambos]).
4. Selecione **Open** (Abrir).

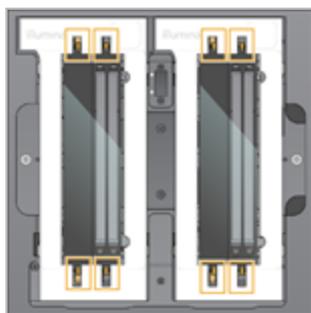
**i** | O estado da pressão de vácuo exibe **Fail** (Reprovado) nos lados A e B ao abrir pela primeira vez a ferramenta de vácuo da lâmina de fluxo. Isso é normal quando uma lâmina de fluxo não está presente ou quando uma lâmina de fluxo é carregada antes da ferramenta de vácuo da lâmina de fluxo.

5. Retire uma nova embalagem de lâmina de fluxo do armazenamento entre 2 °C e 8 °C e descongele à temperatura ambiente por 10–15 minutos.
6. Remova a lâmina de fluxo da embalagem como mostrado a seguir.
  - a. Coloque um novo par de luvas sem pó para evitar contaminar a superfície de vidro da lâmina de fluxo.
  - b. Com o pacote sobre uma superfície plana, abra pela ponta com vedação angular.
  - c. Remova o retentor plástico transparente que cobre a lâmina de fluxo.
  - d. Remova a lâmina de fluxo da embalagem. Segure a lâmina de fluxo pelas laterais para evitar tocar o vidro ou as vedações inferiores.
  - e. Se houver material particulado visível em cada uma das superfícies do vidro, limpe a respectiva superfície com uma compressa sem fiapos com álcool e seque com um lenço para laboratório com poucos fiapos.
  - f. Descarte o conteúdo da embalagem de modo apropriado.

**i** | Alguns arranhões e outros defeitos cosméticos menores na lâmina de fluxo são normais e não devem comprometer a qualidade dos dados e o rendimento. A Illumina recomenda usar essas lâminas de fluxo da forma normal.

7. Alinhe a lâmina de fluxo ao longo dos quatro grampos levantados e coloque-a no estágio da lâmina de fluxo.

Figura 17 Lâminas de fluxo carregadas alinhadas sobre fixações



8. Selecione **Close** (Fechar).  
A porta se fecha, o RFID e a pressão de vácuo são verificados, e o descritor da lâmina de fluxo, a ID da lâmina de fluxo e a pressão de vácuo da lâmina de fluxo são exibidos na tela.
9. Se o estado da pressão de vácuo da lâmina de fluxo for exibido como Pass (Aprovado), selecione **Open** (Abrir) para abrir a porta da lâmina de fluxo e prossiga para [Carregue a lâmina de fluxo na plataforma na página 49](#).  
Se o estado da pressão de vácuo da lâmina de fluxo for exibido como Fail (Reprovado):
  - a. Selecione **Open** (Abrir) para abrir a porta da lâmina de fluxo.
  - b. Remova a lâmina de fluxo do estágio. Segure a lâmina de fluxo pelas laterais para evitar tocar o vidro ou as vedações inferiores.
  - c. Inspeccione se a lâmina de fluxo e o estágio da lâmina de fluxo estão livres de partículas. Se necessário, limpe a superfície aplicável com um pano sem fiapos com álcool e seque com um lenço para laboratório com poucos fiapos.
  - d. Carregue novamente a lâmina de fluxo alinhando a lâmina de fluxo ao longo dos quatro grampos levantados e coloque-a no estágio da lâmina de fluxo.
  - e. Selecione **Close** (Fechar) para fechar a porta da lâmina de fluxo.
  - f. Se a pressão de vácuo da lâmina de fluxo continuar a falhar, entre em contato com o Suporte técnico da Illumina.

## Agrupar, desnaturar e carregar bibliotecas para o sequenciamento

A concentração de carga pode variar dependendo dos métodos de preparação, quantificação e normalização da biblioteca. Para obter instruções, consulte [Gerador de protocolos de desnaturação e diluição](#). Quando a biblioteca agrupada estiver pronta, vá para [Carregue a lâmina de fluxo na plataforma na página 49](#).

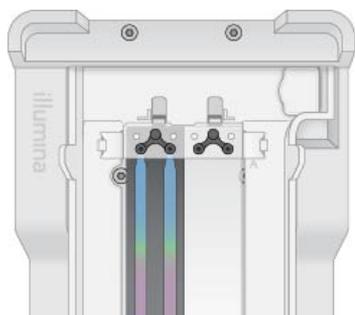
## Carregue a lâmina de fluxo na plataforma

1. Remova a lâmina de fluxo da embalagem. Segure a lâmina de fluxo pelas laterais para evitar tocar o vidro ou as vedações inferiores.
2. Se houver material particulado visível em cada uma das superfícies do vidro, limpe a respectiva superfície com uma compressa sem fiapos com álcool e seque com um lenço para laboratório com poucos fiapos.
3. Descarte o conteúdo da embalagem de modo apropriado.

**i** | Alguns arranhões e outros defeitos cosméticos menores na lâmina de fluxo são normais e não devem comprometer a qualidade dos dados e o rendimento. A Illumina recomenda usar essas lâminas de fluxo da forma normal.

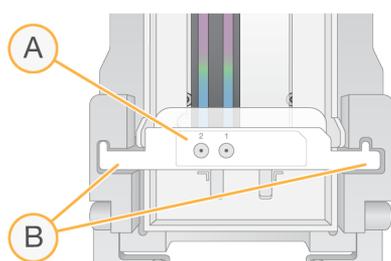
4. Inverta a lâmina de fluxo para que a superfície superior fique virada para *baixo*.
5. Deslize a extremidade de saída da lâmina de fluxo debaixo do suporte e coloque-a sobre a plataforma. Consulte [Lâmina de fluxo na página 17](#) e [Plataforma para lâminas de fluxo NovaSeq Xp na página 21](#).

Figura 18 Colocação da lâmina de fluxo



6. Com os poços virados para cima, carregue o coletor do NovaSeq Xp acima da extremidade de entrada da lâmina de fluxo. Certifique-se de que os braços do coletor do NovaSeq Xp encaixem firmemente nas ranhuras da plataforma.

Figura 19 Colocação do coletor do NovaSeq Xp



- A. Poços do coletor do NovaSeq Xp virados para cima
- B. Braços do coletor do NovaSeq Xp nas ranhuras da plataforma

7. Feche a fixação para prender a lâmina de fluxo e o coletor do NovaSeq Xp e vede as juntas.
8. Descarte o coletor do NovaSeq Xp depois de carregar os pools das bibliotecas na lâmina de fluxo. O coletor do NovaSeq Xp é somente para uso único.

## Preparar a mistura máster de ExAmp

Quando preparar o ExAmp master mix, use um tubo de microcentrifuga que acomode pelo menos duas vezes o volume necessário:

- Para lâminas de fluxo de duas cavidades, use um tubo de 0,5 ml ou 1,7 ml.
- Para lâminas de fluxo de quatro cavidades, use um tubo de 1,7 ml.

As causas mais comuns de variação nos resultados quando os reagentes ExAmp são misturados manualmente são a distribuição inexata dos volumes e mistura insuficiente. Não misture de forma insuficiente.

**i** | Os materiais de consumo DPX1 e DPX2 podem ser identificados como JPX1 e JPX2. Ambos são compatíveis com kits de reagentes v1.0 ou v1.5.

1. Inverta ou agite ligeiramente para misturar DPX1/JPX1 e DPX2/JPX2.
2. Agite ligeiramente o DPX3 para misturar.  
Os reagentes ExAmp podem ter se separado durante o armazenamento. Eles são viscosos, principalmente DPX2/JPX2 e DPX3. O DPX3 não mistura com facilidade quando invertido, devido à sua viscosidade.
3. Centrifugue brevemente DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 e DPX3.
4. Combine os seguintes volumes em um tubo de microcentrifuga adequado na ordem especificada.

Pedido adicional	Reagente*	Volume para lâminas de fluxo de duas cavidades (SP/S1/S2) (µl)	Volume para lâminas de fluxo de quatro cavidades (S4) (µl)
1	DPX1/JPX1	126	315
2	DPX2/JPX2	18	45
3	DPX3	66	165

\*As tampas dos tubos de reagente DPX/JPX podem ser codificadas por cores (vermelho, amarelo e azul para DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 e DPX3, respectivamente). Preserve a codificação de cores ao substituir as tampas dos tubos.

Esses volumes originam 210 µl de ExAmp master mix para o modo SP, S1 ou S2, ou 525 µl de Master Mix para o modo S4. Esses volumes são suficientes para o modo aplicável. É incluído um volume adicional para compensar erros de pipetagem quando as bibliotecas forem carregadas na lâmina de fluxo.

5. Pipete e distribua lentamente para evitar a formação de bolhas e se certificar de que todo o volume seja expelido pela ponta.
6. Agite por 20–30 segundos ou até que a solução esteja completamente misturada.

**i** | O ExAmp master mix é estável ao ser agitado.

A mistura pode ter uma aparência turva, o que é normal.

7. Centrifugue em até 280 × g por até 1 minuto.
8. **Para um melhor desempenho no sequenciamento, vá imediatamente para a próxima etapa. Se necessário, o armazenamento ideal da mistura máster é feito em até 1 hora em gelo. Use em até 30 minutos se o armazenamento for na temperatura ambiente.**

## Carregar bibliotecas na lâmina de fluxo

Para melhores resultados, siga os seguintes passos:

- Mantenha a lâmina de fluxo carregada em temperatura ambiente. Não refrigere nem coloque em gelo.
  - A incubação prolongada pode reduzir o percentual de clusters que passam pelo filtro (%PF).
  - Inicie a execução em até 30 minutos a contar do carregamento dos pools de biblioteca na lâmina de fluxo.
  - O uso imediato da mistura máster de ExAmp/biblioteca apresenta os melhores resultados.
1. Adicione ExAmp Master Mix a cada pool de bibliotecas desnaturadas conforme descrito a seguir e agite por 20 a 30 segundos para misturar.  
Se estiver usando tiras de tubos, pipete para misturar até que a solução fique homogênea.

Modo	Pool de bibliotecas desnaturadas (µl)	ExAmp Master Mix (µl)	Volume resultante (µl)
SP/S1	27	63	90
S2	33	77	110
S4	45	105	150

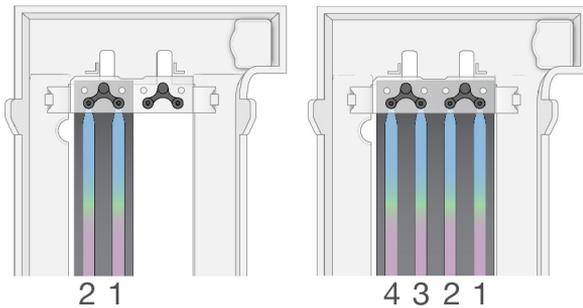
2. Centrifugue em até 280 × g por até 1 minuto.
3. Usando uma pipeta de 200 µl, adicione o volume apropriado de mistura ExAmp/biblioteca a cada poço do coletor do NovaSeq Xp.
  - Para evitar a criação de bolhas, carregue as amostras lentamente.
  - Certifique-se de adicionar a mistura de pool de bibliotecas ao poço que corresponde à cavidade prevista.
  - Evite contato com o filtro no fundo do poço durante a pipetagem.
  - Não é necessário esperar que a cavidade esteja totalmente cheia antes de adicionar a mistura aos demais poços do coletor.

Modo	Mistura biblioteca/ExAmp por poço (µl)
SP/S1	80

Modo	Mistura biblioteca/ExAmp por poço (µl)
S2	95
S4	130

Os números dos poços do coletor do NovaSeq Xp correspondem ao número da cavidade da lâmina de fluxo. Quando a lâmina de fluxo é invertida, a numeração da cavidade é invertida.

Figura 20 Numeração invertida da cavidade



- Depois de adicionar a mistura de ExAmp/biblioteca a todos os poços do coletor, aguarde cerca de 2 minutos para que a mistura atinja a extremidade oposta de cada cavidade.

É normal o surgimento de uma pequena bolha de ar na extremidade de saída da cavidade.

Um pequeno volume da mistura pode permanecer nos poços do coletor depois que a cavidade for preenchida.

**!** Não incline a lâmina de fluxo quando tentar determinar se as cavidades estão cheias ou se houver bolhas. Isso pode causar vazamento da mistura ExAmp/biblioteca da lâmina de fluxo. Se uma cavidade não estiver totalmente cheia, não tente corrigi-la. O rendimento dos dados da cavidade parcialmente preenchida pode ser reduzido. Não tente retirar a amostra da lâmina de fluxo.

**i** Não incline a lâmina de fluxo quando transportá-la.

## Preparar os cartuchos de SBS e de cluster

- Inspeção o lado de baixo de cada cartucho para certificar-se de que os reservatórios estejam livres de gelo, o que indica que os reagentes estão descongelados.
- Inverta cada cartucho dez vezes para misturar os reagentes.
- Bata levemente na parte inferior de cada cartucho na bancada para reduzir as bolhas de ar.

## Preparar primers personalizados

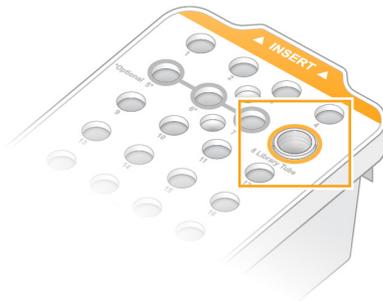
Se sua biblioteca precisar de primers personalizados, prepare-os segundo as instruções do *Guia de primers personalizados NovaSeq Series (documento n.º 1000000022266)*.

## Carregar tubo de biblioteca vazio

1. Destampe o tubo de biblioteca fornecido com o Kit de reagentes NovaSeq 6000.
2. Insira o tubo de biblioteca vazio destampado na posição do **tubo da biblioteca** (n.º 8) do cartucho de cluster.

O tubo de biblioteca vazio deve estar presente para a leitura do RFID e a mistura de reagentes dentro do aparelho. O código de barras do tubo da biblioteca não confere com o código de barras especificado no arquivo LIMS. O RFID é validado para garantir que o tubo não tenha sido usado.

Figura 21 Tubo da biblioteca destampado carregado na posição n.º 8



# Sequenciamento

## Configurar uma execução de sequenciamento

A Illumina recomenda que você permaneça conectado enquanto o NVCS está sendo executado e durante uma execução de sequenciamento.

1. Remova todos os itens da superfície do instrumento.

Mantenha a superfície limpa durante a execução de sequenciamento e evite inclinar-se sobre o instrumento. A pressão na porta da lâmina de fluxo pode fazer com que a porta se abra, interrompendo a execução. Execuções interrompidas não podem ser retomadas.

**i** | O início escalonado de novas execuções é compatível. O temporizador do início escalonado indica quando uma execução escalonada pode ser iniciada. Para obter mais informações, consulte [Início escalonado de execuções na página 64](#).

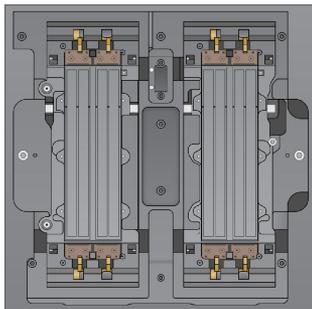
2. Na tela Home (Início), selecione **Sequence** (Sequência) e, em seguida, selecione uma execução de lâmina de fluxo simples ou dupla:
  - **A+B** — configura uma execução de lâmina de fluxo duplo.
  - **A** — configura uma execução de lâmina de fluxo simples no lado A.
  - **B** — configura uma execução de lâmina de fluxo simples no lado B.

O software inicia a série de telas de configuração de execução, começando com Load (Carregar).
3. Selecione **OK** para reconhecer o aviso e abrir a porta da lâmina de fluxo.

### Carregar a lâmina de fluxo no instrumento

1. Se estiver presente, remova a lâmina de fluxo da execução anterior.
2. Se houver material particulado visível no estágio da lâmina de fluxo, limpe todo o estágio, incluindo a interface fluídica e a superfície de vidro do alvo de alinhamento óptico com uma compressa com álcool. Seque com um tecido sem fiapos.

Figura 22 Estágio da lâmina de fluxo



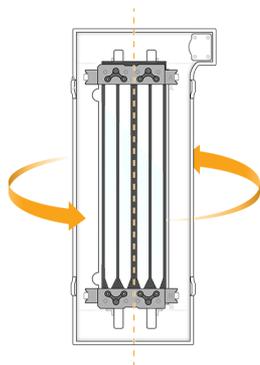
3. **[Fluxo de trabalho padrão]** Remova a lâmina de fluxo da embalagem como mostrado a seguir.

- a. Coloque um novo par de luvas sem pó para evitar contaminar a superfície de vidro da lâmina de fluxo.
- b. Com o pacote sobre uma superfície plana, abra pela ponta com vedação angular.
- c. Remova o retentor plástico transparente que cobre a lâmina de fluxo.
- d. Remova a lâmina de fluxo da embalagem. Segure a lâmina de fluxo pelas laterais para evitar tocar o vidro ou as vedações inferiores.
- e. Se houver material particulado visível em cada uma das superfícies do vidro, limpe a respectiva superfície com uma compressa sem fiapos com álcool e seque com um lenço para laboratório com poucos fiapos.
- f. Descarte o conteúdo da embalagem de modo apropriado.

**i** | Alguns arranhões e outros defeitos cosméticos menores na lâmina de fluxo são normais e não devem comprometer a qualidade dos dados e o rendimento. A Illumina recomenda usar essas lâminas de fluxo da forma normal.

4. **[Fluxo de trabalho NovaSeq Xp]** Descarregue a lâmina de fluxo da plataforma conforme indicado a seguir.
  - a. Abra a fixação que prende a lâmina de fluxo e o coletor.
  - b. Sem deixar que caia líquido na lâmina de fluxo, remova cuidadosamente e descarte o coletor.
  - c. Se cair líquido na lâmina de fluxo, limpe com um pano sem fiapos com álcool e seque com um lenço para laboratório sem fiapos.
  - d. Segure firmemente os lados da lâmina de fluxo para removê-la da plataforma. Mantenha a lâmina de fluxo nivelada.
  - e. Se houver material residual nas juntas, seque as quatro juntas da lâmina de fluxo com um tecido sem fiapos. Não toque nas juntas.
  - f. Inverta a lâmina de fluxo em torno do eixo longitudinal de modo que a superfície superior fique virada para cima.

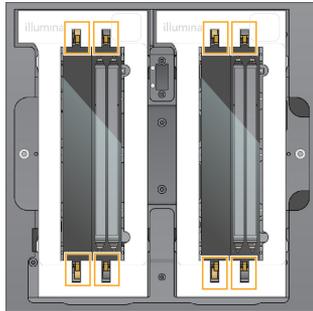
Figura 23 Inverter a lâmina de fluxo em torno do eixo longitudinal



- g. Antes de devolver a plataforma para o armazenamento, inspecione-a e certifique-se de que ela esteja livre de material particulado.

5. Alinhe a lâmina de fluxo ao longo dos quatro grampos levantados e coloque-a no estágio da lâmina de fluxo.

Figura 24 Lâminas de fluxo carregadas alinhadas sobre fixações



6. Selecione **Close Flow Cell Door** (Fechar porta da lâmina de fluxo).  
A porta da lâmina de fluxo se fecha, os sensores e o RFID são verificados e a ID da lâmina de fluxo é exibida na tela.

## Carregar os cartuchos de SBS e de cluster

- i** | Para o fluxo de trabalho NovaSeq Xp, antes de carregar o cartucho de cluster, certifique-se de que o tubo da biblioteca destampado e vazio seja carregado no cartucho.
1. Abra as portas de compartimentos de líquidos e, em seguida, abra a porta do refrigerador de reagentes.
  2. Remova os cartuchos usados de SBS e de cluster.  
Os cartuchos usados têm selos de alumínio perfurados.
  3. Descarte o conteúdo não utilizado de acordo com as normas aplicáveis.  
Para um descarte seguro de posição n.º 30 do cartucho de cluster, consulte [Remover a posição n.º 30 na página 65](#).

4. Carregue os cartuchos preparados na gaveta de refrigerador de reagentes de modo que as etiquetas **Insert** (Inserir) fiquem voltadas para a traseira do instrumento:
  - Coloque o cartucho de SBS (etiqueta cinza) na posição esquerda.
  - Coloque o cartucho de cluster (etiqueta laranja) que contém o tubo da biblioteca destampado na posição direita.

Figura 25 Cartuchos de reagente carregados

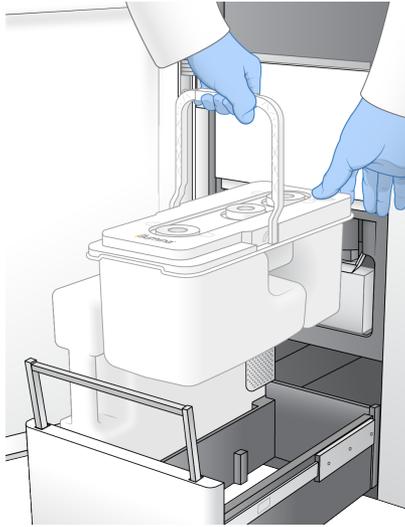


5. Deslize a gaveta para dentro do refrigerador e, em seguida, feche a porta do refrigerador de reagentes.  
Os sensores e os RFIDs são verificados. As identificações do tubo da biblioteca e os dois cartuchos são exibidos na tela.

## Carregar o cartucho de solução tampão

1. Puxe a alça de metal para abrir a gaveta de solução tampão.
2. Remova o cartucho de solução tampão usado pelo lado direito da gaveta de solução tampão.  
O cartucho de solução tampão usado tem selos de alumínio perfurado.
3. Coloque um novo cartucho de solução tampão na gaveta de solução tampão de modo que a etiqueta **Illumina** fique voltada para a frente da gaveta. Alinhe o cartucho com as guias levantadas no piso e laterais da gaveta.  
Quando carregado adequadamente, o cartucho de solução tampão é encaixado uniformemente e a gaveta pode ser fechada.

Figura 26 Carregar o cartucho de solução tampão



4. Se ambos os frascos de reagentes tiverem sido esvaziados, marque a caixa de seleção que informa que ambos os frascos de reagente usados estão vazios.

**!** O não esvaziamento dos frascos de reagente usados pode resultar no encerramento de uma execução e em transbordamento, o que prejudica o instrumento e representa um risco de segurança.

5. Selecione o botão disponível:

- **Login** — abre a tela Login (Login) para fazer login na sua conta na nuvem. Para BaseSpace Sequence Hub, prossiga para [Entrar em BaseSpace Sequence Hub na página 58](#) (Fazer login em). Para Illumina Connected Analytics, prossiga para [Entrar em Illumina Connected Analytics na página 59](#) (Fazer login em).
- **Run Setup** (Configuração de execução) — pula o BaseSpace Sequence Hub e abre a tela Run Setup (Configuração de execução) para inserção dos parâmetros de execução. Prossiga para [Digitar parâmetros da corrida na página 59](#).

O botão que estará disponível dependerá de o sistema estar ou não configurado para o BaseSpace Sequence Hub.

## Entrar em BaseSpace Sequence Hub

Quando você abre o NVCS, o grupo de trabalho padrão do BaseSpace Sequence Hub é selecionado como seu grupo de trabalho. Se você não especificar um padrão, seu grupo de trabalho pessoal será selecionado.

1. **[Opcional]** Atualize as configurações do BaseSpace Sequence Hub para a execução atual:
  - Para desativar o BaseSpace Sequence Hub, desmarque a caixa de seleção **BaseSpace Sequence Hub** e, em seguida, selecione **Run Setup** (Configuração de execução) para continuar sem acessar.

- Para enviar dados de execução ao BaseSpace Sequence Hub para monitoramento remoto e análise de dados, selecione **Run Monitoring and Storage** (Monitoramento e armazenamento de execuções). Essa opção requer uma planilha de amostra.
  - Para enviar arquivos InterOp, runinfo.xml e runParameters.xml para o BaseSpace Sequence Hub a fim de monitorar a execução remotamente, selecione **Run Monitoring Only** (Somente monitoramento de execução).
2. Informe seu nome de usuário e sua senha do BaseSpace Sequence Hub e, em seguida, selecione **Sign In** (Acessar).
  3. Se solicitado, selecione um grupo de trabalho para o qual fazer o upload dos dados de execução e, em seguida, selecione **Run Setup** (Configuração de execução). Isso só será solicitado se você pertencer a vários grupos de trabalho.

## Entrar em Illumina Connected Analytics

1. **[Opcional]** Atualize as seguintes configurações Illumina Connected Analytics (ICA) para a execução atual:
  - Para desativar o ICA, desmarque a caixa de seleção Illumina Cloud Options (Opções de nuvem) e selecione **Run Setup** (Configuração de execução) para continuar sem acessar.
  - Para enviar dados de execução para ICA para monitoramento remoto e análise de dados, selecione **Run Monitoring and Storage** (Monitoramento e armazenamento de execuções). Essa opção requer uma planilha de amostra.
  - Para enviar arquivos InterOp, runinfo.xml e runParameters.xml para o ICA a fim de monitorar a execução remotamente, selecione **Run Monitoring Only** (Somente monitoramento de execução).
2. Informe seu nome de usuário e sua senha do ICA e, em seguida, selecione **Sign In** (Acessar).
3. Quando solicitado, selecione um grupo de trabalho e projeto para o qual fazer o upload dos dados de execução e, em seguida, selecione **Run Setup** (Configuração de execução).

## Digitar parâmetros da corrida

1. Se o fluxo de trabalho NovaSeq Xp estiver habilitado, selecione um tipo de fluxo de trabalho.
  - Se você selecionar **NovaSeq Xp**, certifique-se de que um tubo de biblioteca vazio esteja carregado.
  - Se você selecionar **NovaSeq Standard** (NovaSeq padrão), certifique-se de que a amostra esteja carregada no tubo da biblioteca.
2. No campo Run Name (Nome da execução), digite um nome de sua preferência para identificar a execução atual.

O nome da corrida pode conter caracteres alfanuméricos, hifens e sublinhados.

3. Insira o número de ciclos para cada leitura e a duração do índice da execução de sequenciamento. Não existe um número máximo de ciclos de índice, mas a soma dos ciclos de leitura com os ciclos de índice deve ser menor do que o número de ciclos do kit.
  - **Read 1** (Leitura 1) — insira um valor até 151 ciclos para kits de 300 ciclos v1.0 ou até 251 para kits de 500 ciclos v1.0. Insira um valor até 159 ciclos para kits de 300 ciclos v1.5 ou até 259 para kits de 500 ciclos v1.5.
  - **Index 1** (Índice 1) — insira o número de ciclos para o primer de Índice 1 (i7).
  - **Index 2** (Índice 2)—Insira o número de ciclos para o primer de Índice 2 (i5).
  - **Read 2** (Leitura 2) — Insira um valor até 151 ciclos para kits de 300 ciclos v1.0 ou até 251 para kits de 500 ciclos v1.0. Insira um valor até 159 ciclos para kits de 300 ciclos v1.5 ou até 259 para kits de 500 ciclos v1.5. Este valor é normalmente igual ao valor da Leitura 1.

**i** | O número de ciclos analisados na Leitura 1 e na Leitura 2 é um ciclo menor do que o valor inserido. Por exemplo, para realizar uma execução de 150 ciclos do tipo paired-end (execução de 2 x 150 bp), digite o valor de 151 ciclos para a Leitura 1 e a Leitura 2.

Para kits v1.0, a soma dos quatro valores inseridos pode ultrapassar o número indicado de ciclos para o kit de reagentes selecionado em até 23 ciclos para execuções do tipo paired-end e 30 ciclos para execuções de leitura única.

Para kits v1.5, a soma dos quatro valores inseridos pode ultrapassar o número indicado de ciclos para o kit de reagentes selecionado em até 38 ciclos para execuções do tipo paired-end e execuções de leitura única.

O kit S4 de 35 ciclos contém um total de 72 ciclos de sequenciamento. A soma dos quatro valores pode ultrapassar o número indicado em um máximo de 37 ciclos. Os valores de leitura padrão são editáveis e o número de ciclos pode ser distribuído por 4 leituras, por ex., 36, 10, 10, 0.

4. Expanda **Advanced Options** (Opções avançadas) para aplicar as configurações à execução atual. Essas configurações são opcionais, exceto quando indicado.
  - **v1.0 Custom Primers** (Primers personalizados v1.0) — marque a caixa de seleção **Custom Primers** (Primers personalizados) e, em seguida, marque as caixas de seleção apropriadas. As bibliotecas do Preparação de DNA PCR-Free da Illumina, Tagmentação exigem primer de sequenciamento personalizado de Leitura 1 (VP10) se estiverem usando kits v1.0. Consulte o *Guia de primers personalizados NovaSeq Series (documento n.º 1000000022266)* para obter detalhes.
    - **Read 1** (Leitura 1) — usar o primer personalizado para a Leitura 1.
    - **Read 2** (Leitura 2) — usar o primer personalizado para a Leitura 2.
    - **Custom Index** (Índice personalizado) — usar o primer personalizado para o Índice 1.

- **v1.5 Custom Primers** (Primers personalizados v1.5) — marque a caixa de seleção **Custom Primers** (Primers personalizados) e, em seguida, marque as caixas de seleção apropriadas. As bibliotecas do Preparação de DNA PCR-Free da Illumina, Tagmentação exigem primer personalizado se estiverem usando kits v1.5. Consulte o *Guia de primers personalizados NovaSeq Series (documento n.º 1000000022266)* para obter detalhes.
    - **Read 1** (Leitura 1) — usar o primer personalizado para a Leitura 1.
    - **Read 2** (Leitura 2) — usar o primer personalizado para a Leitura 2.
    - **Custom Index** (Índice personalizado) — usa primer personalizado para leituras de Índice 1 e Índice 2.
  - **Pasta de saída** — selecione **Browse** (Procurar) para alterar a pasta de saída para a execução atual. Uma pasta de saída é necessária quando a corrida não está conectada ao BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics para armazenamento.
  - **Samplesheet** (Planilha de amostras) — selecione **Browse** (Procurar) para fazer upload de uma planilha de amostras, que é necessária ao usar o BaseSpace Sequence Hub ou Illumina Connected Analytics para o monitoramento e armazenamento de execuções ou outro arquivo CSV. O arquivo CSV é copiado para a pasta de saída e não afeta os parâmetros de execução. Certifique-se de que a planilha de amostras obtida por upload esteja no formato adequado (direção do adaptador da Leitura de índice 2) com base nos fluxos de trabalho v1.0 e v1.5 que usam diferentes estratégias. O fluxo de trabalho da fita direta é executado com kits de reagentes v1.0. O fluxo de trabalho do complemento reverso é executado por kits de reagentes v1.5.
  - **Custom Recipe** (Receita personalizada) — selecione **Custom Recipe** (Receita personalizada) e depois **Browse** (Procurar) para usar uma receita personalizada em formato XML para esta corrida. As receitas personalizadas para v1.0 não serão compatíveis com v1.5. Entre em contato com o Suporte técnico da Illumina para obter mais informações.
-  Não existe compatibilidade para a mudança das etapas de clusterização em uma receita personalizada.

5. Selecione **Review** (Verificar).

O software confirma que os parâmetros especificados são apropriados para a receita.

## Confirmar parâmetros de execução

1. Confirme os parâmetros de execução exibidos na tela Review (Revisão).
2. **[Opcional]** Selecione **Back** (Voltar) para retornar à tela Run Setup (Configuração de execução) e editar os parâmetros de execução.
3. Selecione **Start Run** (Iniciar execução).  
As verificações pré-execução são iniciadas automaticamente.

## Analisar as verificações pré-corrida

1. Aguarde cerca de 5 minutos até que as verificações pré-execução sejam concluídas. A corrida é iniciada automaticamente após uma conclusão bem-sucedida.  
  
 Para evitar encher demais o disco rígido, não copie dados para a unidade C após o início da execução.
2. Se as verificações pré-execução falharem devido a um erro do sensor, como lâmina de fluxo não detectada, você precisará sair e reiniciar o fluxo de trabalho.
3. Para outras falhas na verificação pré-execução, selecione **Retry** (Repetir) para reiniciar a verificação com falha ou **Retry All** (Repetir tudo) para reiniciar todas as verificações. A presença de erros exige resolução antes do início da execução. Consulte [Erros de verificação antes da execução na página 75](#) para informações sobre solução de problemas.
4. Selecione o ícone **Error** (Erro) para ver os detalhes do erro.
5. Se a verificação de alinhamento falhar, resolva o erro conforme a seguir.
  - a. Selecione **Reload** (Recarregar) e, em seguida, selecione **OK** para confirmar o retorno à tela Load (Carregar).
  - b. Remova todos os itens da parte de cima do instrumento e, em seguida, selecione **OK**. A porta da lâmina de fluxo abre.
  - c. Recarregue a lâmina de fluxo e, em seguida, selecione **Run Setup** (Configuração de execução).
  - d. Continue em cada tela para reler todos os RFIDs e retorne à tela Pre-Run Checks (Verificação pré-execução).
  - e. Refaça a verificação.

## Monitorar o andamento da corrida

1. Monitore o progresso, as intensidades e as pontuações de qualidade da execução conforme as medidas são exibidas na tela. Para obter mais informações sobre métricas de execução, consulte [Real-Time Analysis na página 79](#).

Figura 27 Progresso e medidas de execução de sequenciamento



- A. **Time to completion** (Hora da conclusão) — a data e a hora da conclusão da execução (aaaa-mm-dd hh:mm).
- B. **Run progress** (Progresso da execução) — a etapa atual da execução. O tamanho da barra de progresso não é proporcional à taxa de execução de cada etapa.
- C. **Q-Scores** — a distribuição das classificações de qualidade (Q-Scores).
- D. **Intensity** (Intensidade) — o valor das intensidades de cluster do 90° percentil para cada bloco. As cores do gráfico indicam os canais vermelho e verde.
- E. **Clusters passing filter (%)** (Passagem de clusters pelo filtro) — a porcentagem da passagem de clusters pelo filtro.
- F. **Projected Total Yield (Gb)** (Rendimento total projetado (Gb)) — o rendimento projetado para a execução FC. Se as métricas por cavidade forem selecionadas (H), os números exibidos indicarão o rendimento atual por cavidade e serão atualizados para cada ciclo durante a execução.
- G. **Q30** — a porcentagem de identificações de bases para a execução que tiverem um Q-Score  $\geq 30$ .
- H. **Per lane breakdown** (Detalhamento por faixa) Selecionar os valores nos itens E, F e G exibirá um detalhamento por faixa dos dados para cada um desses campos.

**i** | Se ocorrer um desligamento ou reinício enquanto o NVCS estiver em execução, o usuário deverá confirmar esta ação antes que o desligamento ou reinício continue.

## Métricas da execução

O software exibe métricas geradas durante a execução. As métricas são exibidas em forma de gráficos, gráficos de pontos e tabelas com base nos dados gerados pelo RTA3 e gravados nos arquivos InterOp.

A clusterização leva aproximadamente 2 horas e, em seguida, o sequenciamento começa com o ciclo 1. As métricas são atualizadas conforme o sequenciamento continua. A passagem de clusters pelo filtro, o rendimento e as pontuações de qualidade estão disponíveis após o ciclo 26. Antes do ciclo 26, não há valores preenchidos e é exibida a designação não aplicável.

## Status de processamento

A tela Process Management (Gestão de processos) lista o status de cada execução. No menu principal, selecione **Process Management** (Gestão de processos).

Para cada nome de execução, Process Management (Gestão de processos) lista o status dos seguintes processos:

- **Run Status** (Status da execução) — com base no processamento de arquivos CBCL.
- **Network** (Rede) — com base na transferência de arquivos usando o Serviço de cópia universal.
- **BaseSpace** — com base em upload de arquivo para o BaseSpace Sequence Hub, se aplicável.

Quando um processo for concluído, uma marca de verificação verde será exibida. Para obter mais informações, consulte [Gerenciamento de processos na página 11](#).

## Início escalonado de execuções

Você pode configurar e iniciar uma execução no lado ocioso do instrumento enquanto uma execução está em andamento no outro lado. Isso é denominado início escalonado. Execuções escalonadas são configuradas em ocasiões específicas durante uma execução, segundo indicado pelos seguintes estados do temporizador de contagem regressiva do início.

- **Run Start: Available** (Início da execução: disponível) — o início escalonado está disponível. A data e a hora são exibidas quando o início escalonado fica indisponível. Selecione **Sequence** (Sequência) para iniciar uma nova execução escalonada após a conclusão do ciclo atual.
- **Run Start: Unavailable** (Início da execução: indisponível) — o início escalonado está indisponível. A data e a hora são exibidas quando o início escalonado fica disponível no outro lado do instrumento.
- **Waiting...** (Esperando...) — se for tentada uma nova execução quando o início escalonado estiver indisponível, o estado mudará para **Waiting** (Esperando) e a data e a hora mostrarão a hora aproximada em que o instrumento estará pronto para a nova execução. O instrumento prossegue com a configuração de execução quando o início escalonado estiver disponível.

Quando você configura a nova execução, o software automaticamente pausa e retoma a execução na lâmina de fluxo adjacente, conforme necessário. O sistema é colocado em um estado seguro ao ser pausado.

## Procedimento

1. Na tela início, selecione **Sequence** (Sequência) e, em seguida, selecione **A** ou **B**.  
O lado selecionado deve ser o lado ocioso, no momento.

2. Aguarde até que a execução na lâmina de fluxo adjacente seja pausada. Para cancelar a nova execução e impedir a pausa, selecione **Cancel** (Cancelar).  
Se a execução adjacente estiver executando a clusterização, ressíntese do tipo paired-end, geração de imagens ou limpeza, o software concluirá a etapa atual antes da pausa.
3. Quando a execução adjacente for pausada e a porta da lâmina de fluxo estiver aberta, configure a nova execução.  
Depois que a nova corrida for iniciada, a corrida pausada será retomada automaticamente.

## Excluir a execução

Após a conclusão da transferência de dados, você pode excluir a execução atual de Process Management (Gestão de processos) para liberar espaço para uma execução subsequente. A exclusão da corrida limpa o CE e a unidade C sem remover os arquivos de manutenção do sistema, sem afetar a rede ou a cópia do BaseSpace Sequence Hub. As execuções que estão em sequenciamento não podem ser excluídas.

1. No menu principal, selecione **Process Management** (Gestão de processos).
2. **[Opcional]** Certifique-se de que cada processo da execução exiba uma marca de verificação verde, o que indica que a transferência de dados foi concluída.  
Você pode excluir uma execução cuja transferência para uma rede ou para o BaseSpace Sequence Hub não foi concluída, mas todos os dados da execução são perdidos.
3. Selecione **Delete Run** (Excluir execução) e **Yes** (Sim) para confirmar.
4. Selecione **Done** (Concluído).

## Remover a posição n.º 30

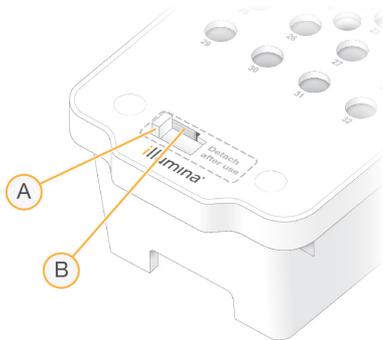
O reservatório da posição n.º 30 do cartucho de cluster contém formamida. Ele é removido do cartucho de cluster usado e descartado separadamente.

**!** | **Esse conjunto de reagentes contém produtos químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer ferimentos por meio de inalação, ingestão e contato com a pele ou com os olhos. A ventilação deve ser apropriada para o manuseio de materiais perigosos em reagentes. Use equipamento de proteção, incluindo proteção para os olhos, luvas e jaleco, apropriado para risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduo químico e descarte-os de acordo com as leis e regulamentações regionais, nacionais e locais aplicáveis.** Para obter mais informações ambientais, de saúde e de segurança, consulte a SDS em [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).

1. Usando luvas, empurre para a direita a aba de plástico branca rotulada **Detach after use** (Remover após o uso).
2. Coloque uma das mãos ou uma superfície sob o reservatório e pressione a aba de plástico transparente em direção à etiqueta da Illumina para soltar o reservatório de sua posição sob o cartucho de cluster.

- i** | Evite empilhar os cartuchos de cluster ao armazenar. O empilhamento pode provocar deslocamento acidental do reservatório.

Figura 28 Posição removível n.º 30



- A. Aba de plástico branca para remover
- B. Aba de plástico transparente para soltar

3. Descarte o reservatório segundo as normas aplicáveis.

## Limpeza automática após a execução

Depois da conclusão do sequenciamento, o software inicia uma limpeza automática após a execução que leva cerca de 80 minutos. O sistema bombeia hipoclorito de sódio (NaOCl) 0,24% na posição n.º 17 e o dilui a 0,12%. O NaOCl 0,12% é bombeado para o reagente ExAmp e para as posições da biblioteca, por meio da lâmina de fluxo, e, em seguida, para os frascos de reagente usados. A lavagem limpa o modelo do sistema para evitar contaminação cruzada.

Após a conclusão da limpeza, o sistema é colocado em um estado seguro, e o botão Home (Início) fica ativo. Deixe os materiais de consumo no lugar até a próxima execução. Após a limpeza, os aspiradores de líquidos permanecem nos cartuchos de SBS e de cluster para impedir a entrada de ar no sistema. Os aspiradores de líquidos no cartucho de solução tampão são levantados para que os frascos de reagente usados possam ser esvaziados.

- i** | Se ocorrer um erro durante uma limpeza automática após a execução e se a limpeza após a execução for incompleta, será necessária uma limpeza de manutenção.

# Manutenção

## Manutenção preventiva

A Illumina recomenda que você agende um serviço de manutenção preventiva a cada ano. Se você não estiver vinculado a um contrato de serviço, entre em contato com seu gerente de conta territorial ou com o Suporte Técnico da Illumina para contratar um serviço de manutenção preventiva faturável.

## Realizar uma lavagem de manutenção

O software solicita uma limpeza de manutenção nas seguintes situações:

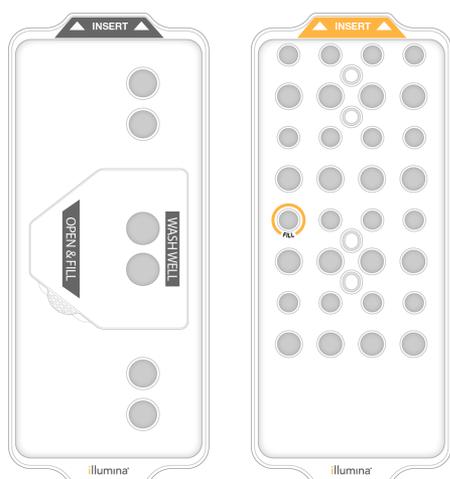
- Quando não houver uma corrida de quatro cavidades com uma limpeza após a execução nos últimos 14 dias.
- Quando não houver uma limpeza de manutenção nos últimos 14 dias.
- Quando uma limpeza após a corrida falhar ou for incompleta.

A lavagem de manutenção enxágua o sistema com diluições de Tween 20 e NaOCl fornecidas pelo usuário. As diluições são bombeadas dos cartuchos de lavagem para a lâmina de fluxo, para os frascos de reagente usado e para todos os reservatórios de cartucho para lavar todos os aspiradores de líquido. A duração da limpeza é de cerca de 80 minutos.

A limpeza de manutenção exige um cartucho de solução tampão, o cartucho de limpeza SBS, o cartucho de limpeza de cluster e a lâmina de fluxo de limpeza de quatro cavidades fornecida com o instrumento (ou uma lâmina de fluxo de quatro cavidades usada). Como os cartuchos reagentes, os cartuchos de limpeza são codificados por cores para impedir o carregamento de erros. O cartucho de limpeza SBS tem um poço central para a diluição de Tween 20. A diluição de NaOCl é adicionada aum reservatório no cartucho de limpeza do cluster.

 Não esvaziar os frascos de reagente usados pode resultar em uma limpeza encerrada e em transbordamento, o que prejudica o instrumento e representa um risco de segurança.

Figura 29 Cartucho de limpeza SBS (à esquerda) e cartucho de limpeza de cluster (à direita)



## Preparar a solução de lavagem

1. Adicione 400 ml de água aprovada para uso em laboratório a um frasco de centrífuga de 500 ml.
2. Adicione 0,2 ml de Tween 20 100% para resultar em pelo menos 400 ml de uma solução de limpeza de Tween 20 0,05%.  
Usar uma diluição recém-preparada de Tween 20 limita a introdução de contaminantes no sistema fluídico.
3. Inverta para misturar.
4. Remova a tampa do poço central do cartucho de limpeza SBS.
5. Adicione a solução de limpeza ao poço central. Preencha até a linha MIN FILL VOLUME (VOLUME DE ENCHIMENTO MÍNIMO), que indica o volume mínimo necessário.  
Os outros reservatórios permanecem vazios.

Figura 30 Poço central cheio até a linha MIN FILL VOLUME (VOLUME DE ENCHIMENTO MÍNIMO)

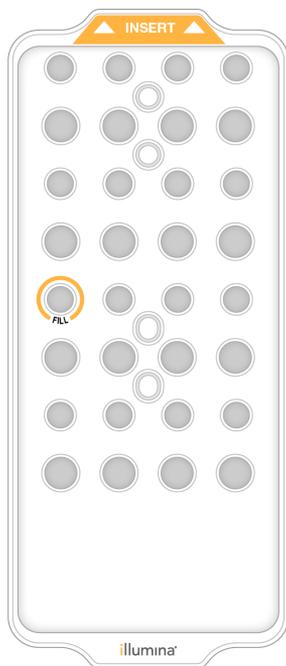


6. Combine os seguintes volumes em um tubo de centrífuga de 30 ml para preparar 20 ml de NaOCl 0,25% com grau de reagente:
  - NaOCl 5% com grau de reagente (1 ml)
  - Água deionizada (19 ml)

- ! Use somente NaOCl com grau de reagente. Evite produtos alvejantes de uso geral, que podem conter compostos de amônia, que podem gerar execuções com baixa porcentagem de leituras que passam pelo filtro.

- Inverta para misturar.
- Adicione 5 ml de NaOCl 0,25% com grau de reagente.  
O local é marcado com Fill (Encher) e tem um círculo alaranjado em torno. Todos os outros reservatórios permanecem vazios.

Figura 31 Posição para NaOCl 0,25%



## Carregar a lâmina de fluxo de limpeza

- Remova todos os itens da superfície do instrumento.  
Mantenha a superfície livre durante a limpeza de manutenção e evite se inclinar sobre o instrumento. A pressão na porta da lâmina de fluxo pode causar sua abertura, o que impede a limpeza.

2. Na tela inicial, selecione **Wash** (Limpeza) e, em seguida, selecione qual lado limpar:

- **A+B** — limpar ambos os lados simultaneamente.
- **A** — limpar somente o lado A.
- **B** — limpar somente o lado B.

O software inicia a série de telas de limpeza.

**i** | Uma limpeza de manutenção para um único lado só pode ser iniciada quando o outro lado está ocioso ou executando ciclos de leitura SBS. A hora do início escalonado do NVCS indica a disponibilidade para iniciar uma nova execução ou uma limpeza. Consulte o [Início escalonado de execuções na página 64](#).

3. Selecione **OK** para reconhecer o aviso e abrir a porta da lâmina de fluxo.

4. Se ainda não estiver presente, carregue uma lâmina de fluxo de limpeza ou uma lâmina de fluxo de 4 cavidades usada.

5. Selecione **Close Flow Cell Door** (Fechar porta da lâmina de fluxo).

A porta se fecha, os sensores e o RFID são verificados e a identificação da lâmina de fluxo é exibida na tela.

## Carregar os cartuchos de limpeza

Cartuchos de limpeza são necessários para uma limpeza de manutenção. Não utilize cartuchos usados de SBS e de cluster.

1. Abra as portas de compartimentos de líquidos e, em seguida, abra a porta do refrigerador de reagentes.

2. Remova os cartuchos de reagentes usados de SBS e de cluster. Descarte o conteúdo não utilizado de acordo com as normas aplicáveis para sua região.

Para um descarte seguro de posição n.º 30 do cartucho de cluster, consulte [Remover a posição n.º 30 na página 65](#).

3. Carregue os cartuchos de limpeza na gaveta de refrigerador de reagentes de modo que as etiquetas **Insert** (Inserir) fiquem voltadas para a traseira do instrumento:

- Coloque o cartucho de SBS (etiqueta cinza) na posição esquerda.
- Coloque o cartucho de cluster (etiqueta laranja) na posição direita.

4. Deslize a gaveta para dentro do refrigerador e, em seguida, feche a porta do refrigerador de reagentes.

Os sensores são verificados, e o RFID para cada cartucho é digitalizado e exibido na tela.

5. Abra a gaveta de solução tampão.

6. Se já não estiver presente, carregue um cartucho de solução tampão usado.

## Esvaziar frascos de reagente usados

Use as seguintes instruções para esvaziar os frascos de reagente usados em *cada* limpeza de manutenção. Mesmo que seu sistema esteja configurado para encaminhar externamente os reagentes usados, o frasco pequeno coleta reagentes usados e o frasco grande deve estar no lugar.

 **Esse conjunto de reagentes contém produtos químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer ferimentos por meio de inalação, ingestão e contato com a pele ou com os olhos. A ventilação deve ser apropriada para o manuseio de materiais perigosos em reagentes. Use equipamento de proteção, incluindo proteção para os olhos, luvas e jaleco, apropriado para risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduo químico e descarte-os de acordo com as leis e regulamentações regionais, nacionais e locais aplicáveis. Para obter mais informações ambientais, de saúde e de segurança, consulte a SDS em [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).**

1. Remova o frasco pequeno de reagente usado e descarte o conteúdo de acordo com as normas aplicáveis para sua região. Mantenha o conteúdo separado do conteúdo do outro frasco.
2. Devolva o receptáculo pequeno de reagente usado para a alcova.
3. Remova o frasco grande de reagente usado e descarte o conteúdo de acordo com as normas aplicáveis.
4. Devolva o frasco grande de reagente usado para a gaveta de solução tampão.
5. Coloque um novo par de luvas sem pó.
6. Feche a gaveta de solução tampão e, em seguida, feche as portas do compartimento de líquidos. Os sensores e os RFIDs são verificados. A identificação de cada componente de limpeza aparece na tela.

## Iniciar a limpeza

1. Marque a caixa de seleção, reconhecendo que os frascos de reagente usados estão vazios e, em seguida, selecione **Start Wash** (Iniciar limpeza).

A limpeza é iniciada e o tempo estimado para sua conclusão é exibido.

 **Não esvaziar os frascos de reagente usados pode resultar em uma limpeza encerrada e em transbordamento, o que prejudica o instrumento e representa um risco de segurança.**

2. Quando a limpeza for concluída, selecione **Home** (Início).
3. Deixe os materiais de consumo no lugar até a próxima execução.  
Os aspiradores de líquidos permanecem nos cartuchos de SBS e de cluster para impedir a entrada de ar no sistema. Os aspiradores de líquidos no cartucho de solução tampão são levantados de modo que os frascos de reagente usados possam ser esvaziados.

## Atualizações de software

Estão disponíveis atualizações de software para o NVCS v1.4 ou posterior. As atualizações de software podem ser baixadas e instaladas em NVCS. A verificação automática de atualizações de software está ativada por padrão. Você pode ativar ou desativar as atualizações automáticas em Settings (Configurações).

**i** | O NovaSeq 6000 deve ser conectado à Internet para verificar se há atualizações de software e para fazer o download das atualizações.

A verificação automática de atualizações é realizada a cada 24 horas. Uma notificação será exibida no menu principal quando uma atualização estiver disponível. A notificação da atualização é visível para todos os usuários, mas somente um administrador pode fazer o download e instalar as atualizações.

Para o fluxo de trabalho NovaSeq Xp, certifique-se de que a versão NVCS atenda aos requisitos mínimos de software listados na tabela a seguir antes de iniciar a preparação de amostras ou materiais de consumo.

Tabela 12 Requisitos mínimos de software

Lâmina de fluxo	Versão mínima do software do kit de reagentes v1.0	Versão mínima do software do kit de reagentes v1.5
SP	1,6	1,7
S1	1.3.1	1,7
S2	Todas	1,7
S4	1.2.0	1,7

**i** | Você não pode atualizar o software se uma das seguintes ações estiver em andamento: execução de sequenciamento, limpeza, configuração de execução ou transferência de arquivo para a pasta de saída ou para o BaseSpace Sequence Hub. Se um fluxo de trabalho NovaSeq Xp estiver em andamento, aguarde a atualização do software até que as bibliotecas tenham sido carregadas na lâmina de fluxo e o sequenciamento esteja concluído.

Para verificar atualizações manualmente ou para fazer download e instalar uma atualização, faça o seguinte.

1. No menu principal, selecione **Software Update** (Atualização de software).  
A tela Software Update (Atualização de software) é exibida, apresentando notas de versão para a atualização disponível. Se a verificação automática de atualizações de software não estiver ativada, você poderá verificar as atualizações manualmente ou ativar a verificação automática.
2. Para fazer download e instalar a atualização, marque a caixa de seleção para confirmar que o download e a instalação levam aproximadamente 30 minutos.
3. Selecione **Download and Install** (Fazer download e instalar).

Quando o download estiver concluído, o NVCS fechará e o instalador será iniciado. Siga as instruções do instalador para concluir a instalação.

Se ocorrerem erros durante o download ou a instalação, entre em contato com o Suporte técnico da Illumina.

# Solução de problemas

## Recursos de solução de problemas

Para perguntas técnicas, visite a [página de suporte do Sistema de sequenciamento NovaSeq 6000 no site da Illumina](#). A página de suporte permite acessar documentação, downloads e perguntas frequentes. Para acessar os boletins de suporte, faça login em sua conta MyIllumina.

Para problemas de qualidade ou de desempenho de execução, entre em contato com o suporte técnico da Illumina. Para facilitar a solução de problemas, considere compartilhar um link do resumo da execução no BaseSpace Sequence Hub com o suporte técnico da Illumina.

## Arquivos de solução de problemas

Arquivo principal	Pasta	Descrição
Arquivo de informações da execução (RunInfo.xml)	Pasta principal	Contém as configurações de execução: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Número de ciclos da execução</li> <li>• Número de leituras da execução</li> <li>• Se a leitura é indexada</li> <li>• Número de feixes e blocos na lâmina de fluxo</li> </ul>
Arquivo de parâmetros de execução (RunParameters.xml)	Pasta principal	Contém o nome da execução e informações sobre parâmetros e componentes de execução, incluindo as seguintes informações dos RFIDs: números de série, números de lote, datas de vencimento e números de catálogo.
Arquivos InterOp (*.bin)	InterOp	Arquivos binários de relatórios utilizados para o Sequencing Analysis Viewer. Os arquivos InterOp são atualizados ao longo da corrida.
Arquivos de registro	Logs (Registros)	Os arquivos de registro descrevem cada etapa realizada pelo instrumento para cada ciclo, incluindo qual reagente é usado, e listam as versões de softwares e firmwares usadas na execução. O arquivo denominado [InstrumentName]_CurrentHardware.csv exibe os números de série dos componentes do instrumento.

## Erros de verificação antes da execução

Se ocorrer um erro durante as verificações pré-execução, use as seguintes ações para resolvê-lo. Se você estiver configurando uma execução de lâmina de fluxo dupla e um lado falhar, você poderá cancelar o lado com falha e continuar com o lado que passou.

Quando uma verificação pré-execução falha, os RFIDs para a lâmina de fluxo, os reagentes e as soluções tampão não são bloqueados, de maneira que os materiais de consumo podem ser usados para uma execução subsequente. Quando a execução é iniciada, os aspiradores de líquido perfuram as vedações de alumínio nos cartuchos do reagente e todos os RFIDs são bloqueados.

Verificação do sistema	Motivo da falha	Ação recomendada
Carregamento da lâmina de fluxo	A lâmina de fluxo não engata ou o sistema não consegue ler a etiqueta RFID.	Inspeccione e limpe a lâmina de fluxo e o estágio da lâmina de fluxo e, em seguida, carregue novamente a lâmina de fluxo.
Sensores	A porta do compartimento está aberta, um material de consumo não foi colocado corretamente ou pelo menos um sensor não está funcionando.	Selecione <b>Retry</b> (Repetir) e siga as instruções na tela para solucionar o erro.
Espaço em disco	O espaço em disco é insuficiente, pois o local especificado da pasta de saída está cheio.	Use a tela Process Management (Gestão de processos) para liberar espaço em disco do local da pasta de saída especificada.
Conectividade do sistema	Ocorreu uma interrupção na conexão com o RTA3, no sistema fluídico ou em outra conexão.	Selecione <b>Retry</b> (Repetir) e siga as instruções na tela para solucionar o erro.
Alinhamento	A posição da lâmina de fluxo evita a criação de imagens.	Siga as solicitações na tela para recarregar a lâmina de fluxo.

### Bandeja de vazamento

Uma bandeja de vazamento é incorporada à base do instrumento para recolher os reagentes ou o fluido refrigerante vazado e coletar o transbordamento dos frascos de reagente usados. Em condições normais, a bandeja de vazamento está seca. O vazamento indica um problema com o instrumento e o transbordamento ocorre quando os frascos de reagente usados não são esvaziados regularmente.

Durante a verificação pré-execução, os sensores detectam se a bandeja de vazamento contém líquidos:

- Se a bandeja de vazamento contiver líquido, mas não estiver cheia, a execução poderá prosseguir, mas você deverá entrar em contato com o suporte técnico da Illumina.
  - Se a bandeja de vazamento estiver cheia, a execução não poderá continuar e você deverá entrar em contato com o suporte técnico da Illumina.
- !** Esvazie os frascos de reagente usados a *cada execução*. As execuções serão interrompidas se um dos frascos de reagentes usados estiver cheio. O transbordamento de qualquer dos frascos de reagente usado danifica o instrumento e requer uma visita ao local de um representante da Illumina, além de representar um risco de segurança.

## Solução de problemas de gestão de processos

A tabela a seguir fornece opções de solução de problemas para o ícone N/A na tela Process Management (Gestão de processos):

- O ícone N/A é exibido na coluna BaseSpace, e a execução é configurada para fazer upload para o BaseSpace Sequence Hub.
- O ícone N/A é exibido na coluna Network (Rede), e a execução é configurada para fazer upload para uma pasta de saída na rede.

Status da corrida	Ação para a solução do problema
Uma execução está em andamento	Feche a tela Process Management (Gestão de processos), aguarde cerca de 5 minutos e reabra a tela.
Uma execução não está em andamento	Desligue e reinicie o instrumento e volte a abrir a tela Process Management (Gestão de processos).

Se o ícone N/A continuar a ser exibido após a conclusão da ação para a solução do problema, entre em contato com o suporte técnico da Illumina.

## Falha de execução antes da clusterização

Se o software apresentar falha na execução antes de o cluster ser iniciado, você poderá salvar os cartuchos de reagente, o tubo da biblioteca (inclusive a amostra) e, se reutilizada de imediato, a lâmina de fluxo, para uma nova execução. Quando a clusterização começa, os aspiradores de líquidos perfuram as vedações de alumínio e os reagentes são transferidos para o tubo da biblioteca e a lâmina de fluxo. Portanto, os materiais de consumo e as bibliotecas não podem ser usados em outra execução.

Você tem duas opções para a configuração de uma nova execução usando os cartuchos reagentes, o tubo da biblioteca e a lâmina de fluxo preservados da execução que apresentou falha:

- **Configurar uma nova execução imediatamente:** configurar a nova execução em até quatro horas após a execução com falhas. Os cartuchos do reagente, o tubo da biblioteca e a lâmina de fluxo permanecerão carregados.

**i** | Para obter os resultados ideais em um fluxo de trabalho NovaSeq Xp, inicie a nova execução o mais rapidamente possível.

- **Configurar uma nova execução posteriormente:** configurar a nova execução em até três semanas após a execução com falhas. Os cartuchos do reagente e o tubo da biblioteca são descarregados do instrumento e armazenados. Os materiais de consumo preservados devem ser identificados com a data e armazenados nas condições originais.

**i** | A lâmina de fluxo não pode ser reutilizada e deve ser descartada. Entre em contato com o Suporte técnico da Illumina para obter uma lâmina de fluxo de reposição.

## Configurar uma nova execução imediatamente

Se uma execução com falha tiver usado o fluxo de trabalho NovaSeq Xp, inicie a nova execução o mais rapidamente possível.

1. Quando a execução apresentar falha e o outro lado do instrumento estiver ocioso, reinicialize o instrumento. Caso contrário, selecione **Home** (Início).
2. Configure uma nova corrida.
3. Deixe a lâmina de fluxo atual no lugar.
4. Abra e feche a porta do refrigerador de reagentes e a gaveta de solução tampão para solicitar que o NVCS a releia os RFIDs do cartucho de reagente.  
Os cartuchos, o tubo da biblioteca e a lâmina de fluxo podem permanecer no instrumento por até quatro horas após a execução com falha.
5. Esvazie os frascos de reagente usados, se necessário, e recolque-os no instrumento.
6. Prossiga com a configuração da execução.

## Configurar uma nova execução posteriormente

1. Quando a execução falhar, selecione **Home** (Início).
2. Configure uma nova execução ou limpeza de manutenção para liberar os materiais de consumo do instrumento.
3. Quando solicitado, remova e armazene os seguintes materiais de consumo:
  - Tampe o tubo da biblioteca e armazene entre -25 °C e -15 °C por até três semanas.
  - Recolque os cartuchos de SBS e de cluster no armazenamento de -15 °C a -25 °C.
  - Recolque o cartucho de solução tampão no armazenamento de temperatura ambiente, protegido da luz.Se não forem perfurados, os cartuchos poderão ser reutilizados em uma nova execução.
4. Selecione **End** (Encerrar) para cancelar a execução ou limpeza de manutenção e, em seguida, selecione **Yes** (Sim) para confirmar o comando.  
Você pode deixar a limpeza de manutenção ser concluída em vez de cancelá-la.

## Encerrar uma corrida

Encerrar uma corrida no sistema NovaSeq 6000 é uma ação *definitiva*. O software não pode retomar a execução nem salvar os dados de sequenciamento, e os materiais de consumo não podem ser reutilizados.

1. Selecione **End** (Encerrar) e então selecione **Yes** (Sim) para confirmar o comando.  
Se a execução for encerrada após a Leitura 1, o software iniciará a limpeza automática após a execução.
2. Se solicitado, selecione uma das seguintes opções de limpeza:
  - **End Run Without Wash** (Encerrar execução sem limpeza) — encerra a execução e inicia uma limpeza de manutenção.
  - **End Run and Wash** (Encerrar execução com limpeza) — encerra a execução e realiza uma limpeza automática após a execução.
  - **Cancel** (Cancelar) — continua com a execução atual.

Se a execução for concluída entre a conclusão da clusterização e da Leitura 1, o software exibirá as opções de limpeza. Caso contrário, o software iniciará a limpeza automática após a execução.
3. Se você tiver selecionado End Run Without Wash (Encerrar execução sem limpeza), siga as instruções do software para configurar uma limpeza de manutenção.

## Desligar o instrumento

Desligar o instrumento com segurança desliga todos os sistemas e software e desativa a energia do instrumento. A barra de status passa de verde para branco, indicando que o desligamento está em andamento.

Em circunstâncias normais, é desnecessário desligar o instrumento.

Um ciclo completo de desligamento e ativação do instrumento deve ser executado sempre que ocorrer um evento de falha do software.

Se ocorrer um desligamento ou reinício enquanto o NVCS estiver em corrida, o usuário deverá confirmar esta ação antes que o desligamento ou reinício continue.

1. No menu principal, selecione **Shutdown Instrument** (Desligar instrumento).
2. Depois que a tela ficar em branco, coloque o interruptor situado na parte traseira do instrumento para a posição desligado.
3. Aguarde pelo menos 60 segundos antes de religar o instrumento.

 Não mude o instrumento de lugar. A movimentação inadequada pode afetar o alinhamento óptico e comprometer a integridade dos dados. Para obter assistência com a relocação, entre em contato com o representante da Illumina.

# Real-Time Analysis

## Visão geral da Real-Time Analysis

O Sistema de sequenciamento NovaSeq 6000 executa o RTA3, uma implementação do software Real-Time Analysis, no instrumento Compute Engine (CE). O RTA3 extrai intensidades de imagens recebidas da câmera, realiza identificação de bases, atribui uma pontuação de qualidade a identificações de bases, alinha-se ao PhiX e relata dados em arquivos InterOp para visualização no Sequencing Analysis Viewer.

Para otimizar o tempo de processamento, o RTA3 armazena informações na memória. Se o RTA3 for desligado, o processamento não será restabelecido e qualquer dado de execução processado na memória será perdido.

### Entradas do RTA3

O RTA3 necessita de imagens lado a lado contidas na memória do sistema local para processamento. O RTA3 recebe informações de corrida e comandos do NVCS.

### Saídas do RTA3

As imagens de cada canal de cor são passadas na memória para o RTA3 como blocos. Nessas imagens, o RTA3 gera um conjunto de arquivos de identificação de bases com pontuação de qualidade e arquivos de filtro. Todas as outras saídas são arquivos de saída de apoio.

Tipo de arquivo	Descrição
Arquivos de identificação de bases	Cada bloco analisado é incluído em um arquivo de identificação de bases concatenado (*.cbcl). Blocos de mesma cavidade e superfície são agregados em um arquivo *.cbcl para cada cavidade e superfície.
Arquivos de filtro	Cada bloco produz um arquivo de filtro (*.filter) que especifica se um cluster passa pelos filtros.
Arquivos de localização de cluster	Os arquivos de localização de cluster (*.locs) contêm as coordenadas X e Y para cada cluster em um bloco. Um arquivo de localização do cluster é gerado para cada corrida.

Os arquivos de saída são usados para análise posterior no BaseSpace Sequence Hub. Você também pode usar o software de conversão bcl2fastq para a conversão de FASTQ e de soluções de análise de terceiros. Os arquivos NovaSeq exigem o software de conversão bcl2fastq2 v2.19 ou posterior. Para obter a versão mais recente do bcl2fastq2, acesse a [página de downloads do bcl2fastq](#) no site da Illumina.

O RTA3 fornece métricas em tempo real da qualidade da execução armazenadas como arquivos InterOp, que são uma saída binária que contém métricas de blocos, ciclos e nível de leitura. É necessário ter arquivos InterOp para visualizar métricas em tempo real usando o Sequencing Analysis Viewer. Para obter a versão mais recente do Sequencing Analysis Viewer, acesse a [página de análise de download do Sequencing Analysis Viewer](#) no site da Illumina.

## Tratamento de erros

RTA3 cria arquivos de registro e os grava na pasta Logs (Registros). Os erros são gravados em um arquivo de texto em formato de arquivo \*.log.

Os arquivos de registro a seguir são transferidos para o destino de saída final ao término do processamento:

- info\_00000.log resume eventos importantes da corrida.
- error\_00000.log lista erros que ocorreram durante uma corrida.
- warning\_00000.log lista avisos que ocorreram durante uma corrida.

## Blocos da lâmina de fluxo

Os blocos são pequenas áreas de imagem na lâmina de fluxo. A câmera captura uma imagem de cada faixa, que é dividida pelo software em blocos para processamento no RTA3. O número total de blocos depende de quantas cavidades, faixas e superfícies são captadas na lâmina de fluxo.

- As lâminas de fluxo SP têm um total de 312 blocos.
- As lâminas de fluxo S1 têm um total de 624 blocos.
- As lâminas de fluxo S2 têm um total de 1.408 blocos.
- As lâminas de fluxo S4 têm um total de 3.744 blocos.

Tabela 13 Blocos da lâmina de fluxo

Componente da lâmina de fluxo	SP	S1	S2	S4	Descrição
Cavidades	2	2	2	4	Uma cavidade é um canal físico com portas de entrada e de saída.
Superfícies	1	2	2	2	As lâminas de fluxo S1, S2 e S4 são captadas em duas superfícies: superior e inferior. A imagem da superfície superior de um bloco é captada primeiro. A imagem da lâmina de fluxo SP é captada somente na superfície inferior.

Componente da lâmina de fluxo	SP	S1	S2	S4	Descrição
Feixes por cavidade	2	2	4	6	Uma faixa é uma coluna em uma cavidade da lâmina de fluxo que a câmera capta como uma imagem.
Blocos por faixa	78	78	88	78	Um bloco é uma porção de uma faixa e apresenta uma área com imagens na lâmina de fluxo.
Total de blocos gerados	312	624	1.408	3.744	Cavidades × superfícies × faixas × blocos por faixa é igual ao número total de blocos.

## Nomenclatura do bloco

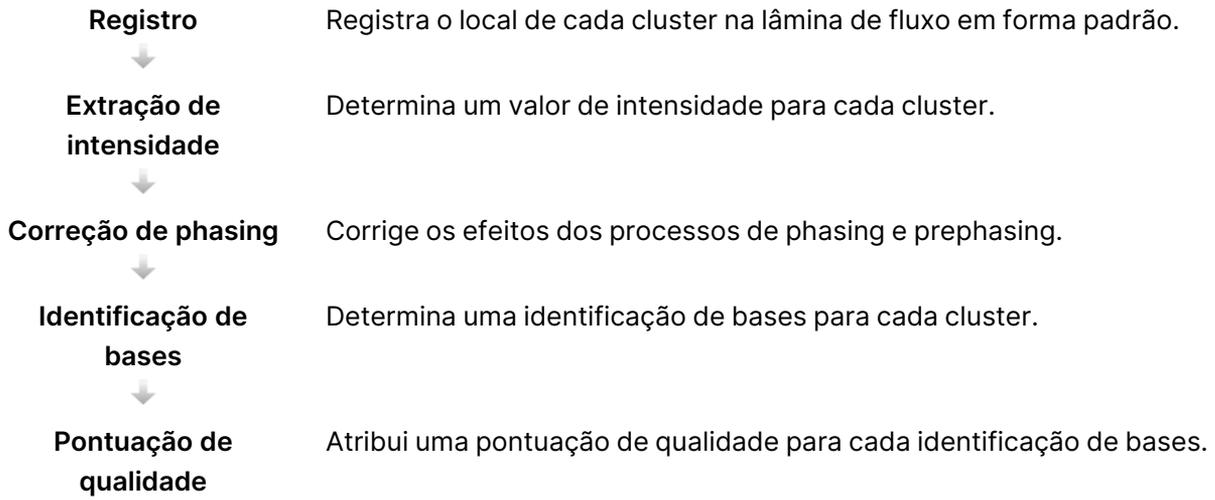
O nome do bloco é um número de cinco dígitos que representa a posição do bloco na lâmina de fluxo. Por exemplo, nome do bloco

1\_1205 indica cavidade 1, superfície superior, faixa 2, bloco 5.

- O primeiro dígito é o número da cavidade:
  - 1 ou 2 para uma lâmina de fluxo SP, S1 ou S2.
  - 1, 2, 3 ou 4 para uma lâmina de fluxo S4.
- O segundo dígito representa a superfície: 1 para superior e 2 para inferior.
 

Para a lâmina de fluxo SP, o segundo dígito sempre é 2, pois esta lâmina de fluxo só tem a superfície inferior.
- O terceiro dígito representa o número da faixa:
  - 1 ou 2 para uma lâmina de fluxo SP ou S1.
  - 1, 2, 3 ou 4 para uma lâmina de fluxo S2.
  - 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 para uma lâmina de fluxo S4.
- Os últimos dois dígitos representam o número do bloco. A numeração começa com 01 na extremidade de saída da lâmina de fluxo e vai até 88 ou 78 na extremidade de entrada.
  - 01 a 78 para uma lâmina de fluxo SP, S1 ou S4.
  - 01 a 88 para uma lâmina de fluxo S2.

## Fluxo de trabalho do Real-Time Analysis



### Registro

O registro alinha uma imagem à matriz hexagonal de nanoporos na lâmina de fluxo, em forma padrão. Devido ao arranjo ordenado dos nanowells, as coordenadas X e Y para cada cluster em um bloco são predeterminadas. As posições de cluster são gravadas em um arquivo local do cluster (s.locs) para cada execução.

Se o registro falhar para qualquer imagem em um ciclo, não serão geradas identificações de bases para o bloco no ciclo. Use o Sequencing Analysis Viewer para identificar as imagens que apresentaram falha no registro.

### Extração de intensidade

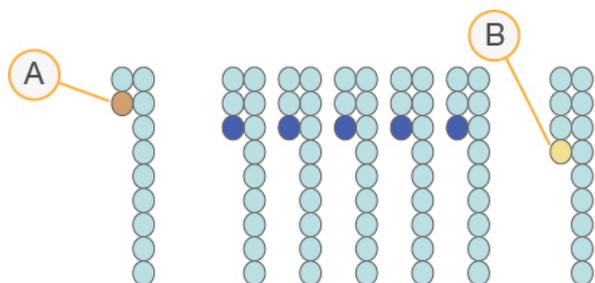
Após o registro, a extração de intensidade calcula um valor de intensidade para cada nanoporo em uma determinada imagem. Se o registro falhar, a intensidade para aquele bloco não poderá ser extraída.

### Correção de phasing

Durante a reação de sequenciamento, cada fita de DNA em um cluster se estende por uma base por ciclo. Os processos de phasing e prephasing ocorrem quando uma fita fica fora de fase com o ciclo de incorporação atual.

- O phasing ocorre quando uma base fica para trás.
- O prephasing ocorre quando uma base fica adiantada.

Figura 32 Phasing e prephasing



- A. Leitura com uma base em phasing
- B. Leitura com uma base em prephasing.

O RTA3 corrige os efeitos de phasing e de prephasing, o que potencializa a qualidade dos dados em cada ciclo ao longo da execução.

### Identificação de bases

A identificação de bases determina uma base (A, C, G ou T) para cada cluster de um determinado bloco em um ciclo específico. O Sistema de sequenciamento NovaSeq 6000 usa o sequenciamento de dois canais, que requer apenas duas imagens para codificar os dados de quatro bases de DNA, uma do canal vermelho e outra do canal verde.

A ausência de identificação é designada como N. Isso ocorre quando um cluster não passa pelo filtro, o registro falha ou um cluster é deslocado para fora da imagem.

As intensidades para cada cluster são extraídas das imagens vermelhas e verdes e comparadas entre si, o que resulta em quatro populações distintas. Cada população corresponde a uma base. O processo de identificação de bases determina a que população cada cluster pertence.

Figura 33 Visualização de intensidades de clusters

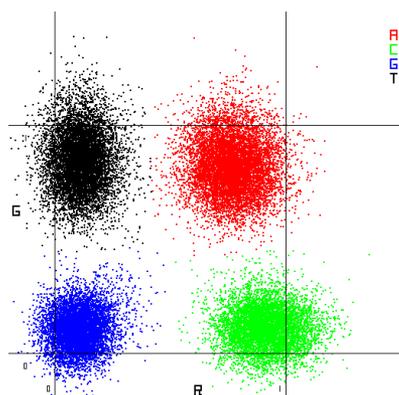


Tabela 14 Identificações de bases em sequenciamento de dois canais

Base	Canal vermelho	Canal verde	Resultado
A	1 (ligado)	1 (ligado)	Clusters que mostram intensidade nos canais vermelho e verde.
C	1 (ligado)	0 (desligado)	Clusters que mostram intensidade apenas no canal vermelho.
G	0 (desligado)	0 (desligado)	Clusters que não mostram qualquer intensidade em locais de cluster conhecidos.
T	0 (desligado)	1 (ligado)	Clusters que mostram intensidade apenas no canal verde.

### Filtro de passagem de clusters

Durante a execução, o RTA3 filtra os dados brutos para remover leituras que não estão de acordo com o limite de qualidade dos dados. Clusters de sobreposição e de baixa qualidade são removidos.

Para a análise de dois canais, o RTA3 usa um sistema de base populacional para determinar a pureza (medida de pureza de intensidade) de uma identificação de bases. Os clusters são aprovados no filtro (PF) quando não mais que uma identificação de bases nos primeiros 25 ciclos tem uma pureza inferior a um limite fixo. O alinhamento PhiX é realizado no ciclo 26 em um subconjunto de blocos para clusters aprovados no filtro. Os clusters que não aprovados no filtro não passam pelo processo de identificação de bases nem são alinhados.

### Pontuações de qualidade

Uma pontuação de qualidade (Q-Score) é uma previsão da probabilidade de uma identificação de bases errada. Um Q-score mais alto indica que uma identificação de bases tem mais qualidade e probabilidade de estar correta. Após a determinação da Q-Score, os resultados são registrados em arquivos de identificação de bases (\*.cbcl).

A Q-Score sucintamente comunica pequenas probabilidades de erro. As pontuações de qualidade são representadas como Q(X), onde X é a pontuação. A tabela a seguir mostra a relação entre uma pontuação de qualidade e a probabilidade de erro.

Q-Score Q(X)	Probabilidade de erro
Q40	0,0001 (1 em 10.000)
Q30	0,001 (1 em 1.000)
Q20	0,01 (1 em 100)
Q10	0,1 (1 em 10)

## Pontuação de qualidade e relatórios

A pontuação de qualidade calcula um conjunto de preditores para cada identificação de bases e usa esses valores para consultar o Q-score em uma tabela de qualidade. Tabelas de qualidade são criadas para fornecer previsões de qualidade com precisão ideal para corridas geradas por uma configuração específica de plataforma de sequenciamento e versão de química.

**i** | A pontuação de qualidade baseia-se em uma versão modificada do algoritmo Phred.

O RTA3 atribui a cada identificação de bases uma de três pontuações de qualidade com base na confiança da identificação de bases. Esse modelo de relatório de Q-score reduz os requisitos de espaço de armazenamento e largura de banda sem afetar a precisão e o desempenho.

Para obter mais informações sobre a pontuação de qualidade, consulte *Pontuações de qualidade do sistema NovaSeq™ 6000 e Software RTA3 (Publicação n.º 770-2017-010)*.

# Arquivos e pastas de saída

## Estrutura da pasta de saída de sequenciamento

O NVCS gera o nome da pasta de saída automaticamente.

 **Config** — definições de configuração para a execução.

 **Logs** — arquivos de log que descrevem etapas operacionais, análise de instrumentos e eventos do RTA3.

 **Data**

 **Intensities**

 **BaseCalls**

 **L00[X]** — arquivos de identificação de bases (\*.cbcl) agregados em um arquivo por cavidade, superfície e ciclo.

 `s.locs` — o arquivo dos locais do cluster para a execução.

 **InterOp** — arquivos binários usados pelo Sequencing Analysis Viewer.

 **Recipe** — arquivo de receita específico para a execução.

 **Thumbnail Images** — imagens em miniatura para cada 10<sup>o</sup> bloco.

 **LIMS** — o arquivo (\*.json) de configuração da execução, se aplicável.

 `RTA3.cfg`

 `RunInfo.xml`

 `RunParameters.xml`

 `RTAComplete.txt`

 `CopyComplete.txt`

 `SampleSheet.csv` — planilha de amostra ou outro arquivo anexado, se aplicável.

 `SequenceComplete.txt`

## Arquivos de resultado do sequenciamento

Tipo de arquivo	Descrição, local e nome do arquivo
Arquivos de identificação de bases	<p>Cada cluster analisado é incluído em um arquivo de identificação de bases, agregado em um arquivo por ciclo, cavidade e superfície. O arquivo agregado contém a identificação de bases e a pontuação de qualidade codificada para cada cluster. Os arquivos de identificação de bases são usados pelo BaseSpace Sequence Hub ou bcl2fastq2.</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, por exemplo L001_1.cbcl</p>
Arquivos de localização de cluster	<p>Para cada lâmina de fluxo, um arquivo de localização do cluster binário contém as coordenadas XY para os clusters em um bloco. Um layout hexagonal que corresponde ao layout do nanopoço da lâmina de fluxo predefine as coordenadas.</p> <p>Data\Intensities s_[lane].locs</p>
Arquivos de filtro	<p>O arquivo de filtro especifica se um cluster passou pelos filtros. Os arquivos de filtro são gerados no ciclo 26 usando 25 ciclos de dados. Um arquivo de filtro é gerado para cada bloco.</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane]_[tile].filter</p>
Arquivos InterOp	<p>Arquivos binários de relatórios utilizados para o Sequencing Analysis Viewer. Os arquivos InterOp são atualizados ao longo da corrida.</p> <p>Pasta InterOp</p>
Arquivo de informações da corrida	<p>Lista o nome da corrida, o número de ciclos em cada leitura, se a leitura é uma leitura de índice e o número de faixas e blocos da lâmina de fluxo. O arquivo de informações da corrida é criado no início da corrida.</p> <p>[Root folder],RunInfo.xml</p>
Arquivos de miniaturas	<p>Quando ativada, uma imagem em miniatura para cada 10º bloco em cada canal de cor (vermelho e verde).</p> <p>Thumbnail_Images\L001\C[X.1] — os arquivos são armazenados em uma subpasta para cada ciclo. s_[lane]_[tile]_[channel].jpg — a imagem em miniatura inclui o número do bloco.</p>

# Segurança do Windows

## Requisitos da senha

A tabela a seguir identifica as políticas de senha necessárias para o computador de controle. O software solicita uma alteração de senha no primeiro login.

Tabela 15 Políticas de senha padrão

Política	Configuração de segurança
Aplicar o histórico de senhas	5 senhas memorizadas
Duração máxima da senha	180 dias
Duração mínima da senha	0 dia
Tamanho mínimo da senha	10 caracteres
A senha deve atender aos requisitos de complexidade	Desativado
Armazenar senhas usando criptografia reversível	Desativado

## Firewall do Windows

O firewall do Windows protege o computador de controle filtrando o tráfego de entrada para remover possíveis ameaças. O firewall é ativado por padrão para bloquear todas as conexões de entrada. Mantenha o firewall ativado e permita conexões de saída. Para obter mais informações sobre conexões de saída, consulte o *Guia de preparação do local da série NovaSeq (documento n.º 1000000019360)*.

## Kit de ferramentas aprimorado da experiência de mitigação

O Kit de ferramentas aprimorado da experiência de mitigação (EMET) impede a exploração de vulnerabilidades de software e fornece o recurso Confiança certificada. O recurso detecta e interrompe ataques que usam certificados mal-intencionados.

## Políticas de restrição de software

As políticas de restrição de software (SRP) do Windows usam regras para permitir que se execute apenas o software especificado. Para o NovaSeq 6000, as regras do SRP são baseadas em certificados, nomes de arquivos e extensões e diretórios.

Por padrão, as SRP são ativadas para evitar a execução de um software indesejado no computador de controle. Um representante de TI ou administrador do sistema pode adicionar e remover regras para personalizar o nível de segurança. Se o sistema for adicionado a um domínio, o objeto de política de grupos (GPO) local poderá modificar as regras automaticamente e desativar as SRP.

**!** | Desativar a política de restrição de software impede a proteção fornecida. A alteração das regras substitui as proteções padrão.

## Regras de SRP permitidas

No Sistema de sequenciamento NovaSeq 6000, o SRP assume o padrão para permitir as seguintes regras.

### Certificados

DigitalSystems  
Illumina, Inc.  
NovaSeq

### Arquivos executáveis

Portmon.exe  
Procmon.exe  
Procmon64.exe  
Tcpview.exe

### Extensões de arquivos

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

## Extensões de arquivos

\*.xml

## Diretórios

```
%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\*
```

## Adicionar e remover regras de SRP

Adicione e remova regras de SRP para personalizar a segurança do sistema. A modificação das regras requer a desativação temporária das SRP. Para obter instruções sobre como adicionar e remover regras de SRP, consulte [Segurança e rede](#).

# Considerações sobre o modo de pesquisa do NovaSeq 6000Dx

## Introdução

O sistema de sequenciamento NovaSeq 6000Dx tem dois modos de operação diferentes, o modo de diagnóstico *in vitro* (IVD) e o modo de uso somente para pesquisa (RUO). No modo RUO, você pode criar uma execução manualmente ou escolher uma execução pré-planejada de várias fontes.

Illumina Run Manager é um recurso exclusivo do instrumento NovaSeq 6000Dx. Para obter instruções sobre como criar uma execução planejada no Illumina Run Manager ou usar o modo IVD, consulte *Documentação do produto para o instrumento NovaSeq 6000Dx (documento n.º 200010105)*.

No modo RUO manual, as instruções neste guia são aplicáveis ao instrumento NovaSeq 6000Dx, com as seguintes exceções:

- Compatibilidade de materiais de consumo
- Indicadores de modo do instrumento
- Procedimentos de lavagem de manutenção

## Opções de planejamento de execução do NovaSeq 6000Dx

Há várias opções para planejar uma execução no instrumento NovaSeq 6000Dx.

- **Manual** — as informações de execução são inseridas manualmente. Disponível apenas quando o instrumento está no modo RUO. Consulte [Configurar uma execução de sequenciamento na página 54](#).
- **LIMS** — selecione uma execução de um servidor LIMS ou LIMS baseado em arquivo. Disponível apenas quando o instrumento está no modo RUO. Consulte [Modos de configuração da execução na página 30](#).
- **Illumina Run Manager** — planeje uma execução no Servidor DRAGEN usando o Illumina Run Manager. Disponível no modo IVD ou RUO. Para obter mais informações sobre esse método, Servidor DRAGEN e Illumina Run Manager, consulte o *Documentação do produto para o instrumento NovaSeq 6000Dx (documento n.º 200010105)*.

## Compatibilidade de materiais de consumo do NovaSeq 6000Dx

A corrida de sequenciamento no instrumento NovaSeq 6000Dx requer um kit NovaSeq 6000 de uso único ou NovaSeq 6000kit Dx, cartucho de solução tampão e tubo de biblioteca. Você pode usar materiais de consumo do NovaSeq 6000Dx para uma execução no modo RUO. Os materiais de consumo do NovaSeq 6000 não podem ser usados para uma execução no modo IVD.

## Indicadores de modo do instrumento NovaSeq 6000Dx

O instrumento NovaSeq 6000Dx apresenta um botão de alternância na tela inicial que pode ser usado para alternar entre o modo RUO e o modo IVD. Quando o instrumento NovaSeq 6000Dx for alternado para o modo RUO, use os botões de opção para selecionar o modo planejado ou o modo manual.

A tabela a seguir lista os indicadores de modo do instrumento na tela inicial.

Modo	Barra de cores
Modo IVD	Cinza
Modo RUO	Azul

## Recursos e referências

As [páginas de suporte do NovaSeq](#) no site de suporte da Illumina disponibilizam outros recursos. Verifique sempre as páginas de suporte quanto às versões mais recentes.

### Histórico de revisões

Documento	Data	Descrição da alteração
Material n.º 20023471 Documento n.º 1000000019358 v18	Abril de 2025	Atualizadas referências às informações das contas do sistema operacional. Adicionada orientação de que cartuchos de SBS e de cluster podem ser congelados novamente até uma vez após o descongelamento. Adicionada orientação de solução de problemas para erros de falha de carregamento de lâminas de fluxo. Adicionada orientação para inspecionar cartuchos de SBS quanto a rachaduras ao removê-los da embalagem.
Material n.º 20023471 Documento n.º 1000000019358 v17	Setembro de 2022	Adicionadas considerações do modo de pesquisa NovaSeq 6000Dx.
Material n.º 20023471 Documento n.º 1000000019358 v16	Junho de 2022	Removidas instruções incorretas de preparação do cartucho de cluster.
Material n.º 20023471 Documento n.º 1000000019358 v15	Mai de 2022	Adicionado: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Informações do Illumina Connected Analytics.</li> <li>• Verificação pré-vácuo.</li> <li>• Esclarecimento de que o DPX3 é compatível com os kits de reagentes v1.0 e 1.5.</li> </ul>
Material n.º 20023471 Documento n.º 1000000019358 v14	Setembro de 2020	Atualizados os números de catálogo dos kits disponíveis para refletir as ofertas atuais dos kits de reagentes v1.0 e v1.5.

<b>Documento</b>	<b>Data</b>	<b>Descrição da alteração</b>
Material n.º 20023471 Documento n.º 1000000019358 v13	Julho de 2020	Adicionadas informações ao suporte do kit de reagentes NovaSeq 6000 v1.5 e do software v1.7, o que permite o detalhamento das métricas por cavidade em determinados campos de dados de métricas de execução.
Material n.º 20023471 Documento n.º 1000000019358 v12	Fevereiro de 2020	Informações sobre desnaturação e diluição movidas para o novo Guia de desnaturação e diluição NovaSeq 6000 (documento n.º 1000000106351).
Material n.º 20023471 Documento n.º 1000000019358 v11	Fevereiro de 2019	Atualizada a tabela Complexidade do pool de bibliotecas para o fluxo de trabalho Xp.
Material n.º 20023471 Documento n.º 1000000019358 v10	Janeiro de 2019	Adicionadas informações da lâmina de fluxo SP Atualizadas as tabelas de complexidade recomendada do pool de bibliotecas para os fluxos de trabalho padrão e Xp.
Material n.º 20023471 Documento n.º 1000000019358 v09	Novembro de 2018	Corrigido o link para a página de suporte do NovaSeq 6000. Corrigida advertência ausente.

Documento	Data	Descrição da alteração
Material n.º 20020483 Documento n.º 1000000019358 v08	Setembro de 2018	Adicionadas informações do kit NovaSeq 6000 S4 (200 ciclos). Adicionadas informações sobre a conta do usuário. Adicionadas concentrações de carregamento de lâminas simples. Atualizadas instruções para o início escalonado de execuções. Atualizadas instruções de acesso ao BaseSpace. Atualizadas instruções da verificação pré-execução. Adicionadas observações sobre o requisito de confirmar o desligamento ou a reinicialização. Adicionada observação sobre limpeza após a execução incompleta. Esclarecidas informações da limpeza de manutenção. Esclarecidas informações de atualização de software.

Documento	Data	Descrição da alteração
Material n.º 20020483 Documento n.º 1000000019358 v07	Abril de 2018	<p>Esclarecido o uso do tubo da biblioteca para misturar reagentes na etapa de melhoria antes do sequenciamento.</p> <p>Adicionada uma tabela de descrições dos símbolos localizados nos materiais de consumo ou nas respectivas embalagens.</p> <p>Acrescentadas informações sobre o serviço de monitoramento Illumina Proactive na seção Run Setup Modes (Modos de configuração de execuções).</p> <p>Adicionadas informações sobre a API do NovaSeq LIMS.</p> <p>Atualizadas as descrições de software para Software de Controle NovaSeq v1.4.0</p> <p>Atualizado o número típico de leituras que passam pelo filtro para lâminas de fluxo S2.</p> <p>Atualizadas as concentrações de carregamento recomendadas para o fluxo de trabalho NovaSeq Xp.</p> <p>Atualizadas as instruções para abertura do pacote da lâmina de fluxo.</p> <p>Esclarecido o procedimento para carregar bibliotecas na lâmina de fluxo.</p> <p>Adicionada observação sobre a disponibilidade do instrumento iniciar uma limpeza de manutenção.</p> <p>Adicionadas informações sobre o temporizador da contagem regressiva do início escalonado.</p> <p>Atualizadas instruções sobre como adicionar ou remover regras de SRP.</p>

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento n.º 1000000019358 v06	Fevereiro de 2018	<p>Adicionada observação na seção Lâmina de fluxo para indicar que a versão 1.3.1 do software é necessária quando for usada uma lâmina de fluxo S1.</p> <p>Atualizadas as descrições e o volume padrão na tabela em <i>Métodos de carregamento de bibliotecas</i>.</p> <p>Adicionado cuidado em <i>Componentes do kit de reagentes</i>.</p> <p>Adicionados tubos de 0,5 e 1,5 ml e pontas de pipetas para pipetas de 20, 200, 1000 µl na tabela Materiais de consumo. Adicionado cilindro graduado à tabela Equipamentos.</p> <p>Adicionada a seção <i>Preparar a lâmina de fluxo</i> aos Capítulos 4 e 5, transferidas as etapas do Capítulo 6 para estas seções.</p> <p>Atualizado o volume total para a lâmina de fluxo S1 no Capítulo 4.</p> <p>Adicionada a tabela Complexidade recomendada do pool de bibliotecas a <i>Criar um pool de bibliotecas normalizadas</i> no Capítulo 4.</p> <p>Atualizadas as etapas <i>Descongelar cartuchos de SBS e de cluster</i> nos Capítulos 4 e 5.</p> <p>Esclarecidas as instruções de descongelamento em <i>Preparar lâmina de fluxo</i>.</p> <p>Atualizadas as informações de congelamento em <i>Concentrações de carregamento recomendadas para o NovaSeq Xp</i>.</p> <p>Atualizada a tabela Complexidade recomendada do pool de bibliotecas em <i>Criar um pool de bibliotecas normalizadas</i> no Capítulo 5.</p> <p>Acrescentada uma frase especificando que a lâmina de fluxo deve ser usada em até 12 horas após a respectiva remoção da embalagem em <i>Resumo do fluxo de trabalho do NovaSeq Xp</i> e <i>Preparar lâmina de fluxo</i>.</p>

Documento	Data	Descrição da alteração
<p>Documento n.º 1000000019358 v05</p>	<p>Dezembro de 2017</p>	<p>Adicionado esclarecimento sobre tubo de biblioteca vazio para Xp no diagrama de Fluxo de trabalho de sequenciamento.</p> <p>Em Desnaturar biblioteca e controle de PhiX opcional para o fluxo de trabalho padrão, atualizados os volumes de Tris-HCl na tabela para a etapa 5.</p> <p>Em Preparar o ExAmp Master Mix para o fluxo de trabalho NovaSeq Xp, adicionada observação após a etapa 4 para indicar que é necessário agitar para a obtenção de melhores resultados.</p> <p>Em Carregar bibliotecas na lâmina de fluxo para o fluxo de trabalho NovaSeq Xp, adicionado lembrete após a etapa 3 para carregar as amostras lentamente.</p>
<p>Material n.º 20023471 Documento n.º 1000000019358 v04</p>	<p>Outubro de 2017</p>	<p>Adicionado carregamento de cavidades individuais à lista de recursos do instrumento.</p> <p>Materiais de consumo - adicionados o Kit NovaSeq Xp com 2 cavidades e o Kit NovaSeq Xp com 4 cavidades. Adicionados o Pacote do coletor do NovaSeq Xp com 2 cavidades e o Pacote do coletor do NovaSeq com 4 cavidades.</p> <p>Equipamento - acrescentadas a plataforma de lâmina de fluxo NovaSeq Xp e a pipeta P200 para fluxo de trabalho do NovaSeq Xp.</p> <p>Acrescentado um capítulo Preparação de materiais de consumo para o fluxo de trabalho do NovaSeq Xp</p> <p>Transferido Esvaziar frascos de reagentes usados do capítulo Sequenciamento para o início dos capítulos Fluxo de trabalho NovaSeq padrão e Fluxo de trabalho NovaSeq Xp.</p> <p>Atualizada a tabela Concentração de biblioteca agrupada e a tabela Concentração de carga recomendada para o fluxo de trabalho padrão.</p>

Documento	Data	Descrição da alteração
<p>Material n.º 20020483 Documento n.º 1000000019358 v03</p>	<p>Setembro de 2017</p>	<p>Atualizadas as descrições do Software de Controle NovaSeq v1.2, que contêm suporte para as lâminas de fluxo S1 e S4.</p> <p>Acrescentados requisitos de espaço em disco para uma corrida de lâmina de fluxo dupla com lâminas de fluxo S1 e S4.</p> <p>Especificado o requisito de nomenclatura para determinados arquivos *.json.</p> <p>Reorganizadas as informações sobre a visão geral do kit no capítulo <i>Kits e acessórios</i>. Este capítulo trata de configurações, componentes e identificação de compatibilidade para os kits de reagentes e de carregamento de bibliotecas.</p> <p>Acrescentado o Kit de reagentes NovaSeq 6000 aos materiais de consumo fornecidos pelo usuário.</p> <p>Atualizadas as instruções para agrupar e desnaturar biblioteca para conter informações de lâminas de fluxo S1 e S4.</p> <p>Atualizadas as instruções de descongelamento de cartuchos de reagentes para exigir um banho-maria de duas horas para S1 e S2 e um banho-maria de quatro horas para S4.</p> <p>Atualizadas as descrições do tubo de biblioteca, cartuchos de reagentes e lâminas de fluxo para incluir componentes S4.</p> <p>Acrescentada uma seção sobre atualizações automáticas de software no capítulo <i>Manutenção</i>.</p> <p>Substituída a referência à <i>Redução da pegada de armazenamento de dados do genoma inteiro (Pub. n.º 970-2012-013)</i> por <i>Comparação de qualidade dos dados do NovaSeq Series e HiSeq X Ten (Pub. n.º 770-2017-010)</i>.</p> <p>Adicionada observação à etapa 3 em <i>Inserir parâmetros de execução</i> no Capítulo 6.</p> <p>Atualizada a seção <i>Blocos da lâmina de fluxo</i> para incluir informações de blocos S1 e S4.</p>

Documento	Data	Descrição da alteração
Material n.º 20018871 Documento n.º 1000000019358 v02	Abril de 2017	Adicionadas as seguintes informações: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Materiais de consumo fornecidos pela Illumina necessários para uma execução.</li> <li>• Condições de armazenamento dos componentes do kit de reagentes.</li> <li>• Recomendações para a concentração de carga da biblioteca.</li> <li>• Diluição de NaOH para duas lâminas de fluxo.</li> <li>• Etapa para deixar a lâmina de fluxo em temperatura ambiente antes de carregar.</li> <li>• Etapa de troca de luvas após esvaziar os frascos de reagentes usados.</li> <li>• Configuração da saída do LIMS para sistemas LIMS de terceiros.</li> <li>• Convenção de nomenclatura para planilhas de amostras.</li> <li>• Ícones de gestão de processos e solução de problemas.</li> <li>• Apêndice contendo os recursos de segurança do Windows e instruções de configuração.</li> <li>• Informações de contato para assistência técnica.</li> </ul> Tempo de descongelamento do cartucho de reagentes aumentado para 4 horas. Atualização das instruções de spike-in de PhiX para mudar o volume de spike-in de 1% de PhiX para 0,9 µl e usar 10 mM de Tris-HCl, pH 8,5 para diluir 10 nM de PhiX. Atualização das instruções para limpar a lâmina de fluxo e o estágio da lâmina de fluxo apenas quando houver material particulado visível. Atualização da frequência de limpeza de manutenção para a cada 14 dias. Reorganização e consolidação das instruções sobre a preparação de materiais de consumo para melhorar a continuidade. Renomeação das portas francesas para as portas do compartimento de líquidos.

<b>Documento</b>	<b>Data</b>	<b>Descrição da alteração</b>
Material n.º 20018406 Documento n.º 1000000019358 v01	Março 2017	Correção do nome de uma coluna na tela Process Management (Gestão de processos) para Sequencing (Sequenciamento).
Material n.º 20015871 Documento n.º 1000000019358 v00	Fevereiro 2017	Versão inicial.



Illumina, Inc.  
5200 Illumina Way  
San Diego, Califórnia 92122, EUA  
+1 (800) 809-ILMN (4566)  
+1 (858) 202-4566 (fora da América do Norte)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com

**Somente para uso em pesquisa. Não deve ser usado para fins de diagnóstico.**

© 2025 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

**illumina**<sup>®</sup>