# illumına

# NovaSeq 6000

Руководство по эксплуатации системы секвенирования

СОБСТВЕННОСТЬ КОМПАНИИ ILLUMINA Документ № 100000019358, версия 18 Апрель 2025 г.

Настоящий документ и его содержание являются собственностью компании Illumina, Inc. и ее аффилированных лиц (Illumina) и предназначены для использования исключительно в рамках договора заказчиком при эксплуатации изделия (-й), описанного (-ых) в настоящем документе, и ни для какой иной цели. Настоящий документ и его содержание не подлежат использованию или распространению не по назначению и/или передаче, раскрытию или воспроизведению каким-либо способом без предварительного письменного согласия компании Illumina. Настоящим документом компания Illumina не передает никаких лицензий на свои патенты, товарные знаки, авторские права или права, признаваемые общим правом, или аналогичные права третьих лиц.

Инструкции, изложенные в настоящем документе, должны строго и точно соблюдаться квалифицированным и прошедшим соответствующее обучение персоналом для обеспечения правильной и безопасной эксплуатации изделий, описанных в настоящем документе. Перед началом работы с оборудованием пользователь обязан тщательно изучить данный документ.

НЕВЫПОЛНЕНИЕ ТРЕБОВАНИЙ ПО ПОЛНОМУ ПРОЧТЕНИЮ И ТОЧНОМУ ВЫПОЛНЕНИЮ ВСЕХ ИНСТРУКЦИЙ, СОДЕРЖАЩИХСЯ В НАСТОЯЩЕМ ДОКУМЕНТЕ, МОЖЕТ ПРИВЕСТИ К ПОВРЕЖДЕНИЮ ИЗДЕЛИЙ, ТРАВМАМ (ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ ИЛИ ИНЫХ ЛИЦ) И ПОВРЕЖДЕНИЮ ИМУЩЕСТВА И ПРИВЕДЕТ К ОТМЕНЕ ЛЮБЫХ ГАРАНТИЙНЫХ ОБЯЗАТЕЛЬСТВ, ПРИМЕНИМЫХ К ИЗДЕЛИЯМ.

КОМПАНИЯ ILLUMINA НЕ НЕСЕТ НИКАКОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТИ, ВОЗНИКАЮЩЕЙ ВСЛЕДСТВИЕ НЕНАДЛЕЖАЩЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИЗДЕЛИЙ, ОПИСАННЫХ В НАСТОЯЩЕМ ДОКУМЕНТЕ (ВКЛЮЧАЯ ИХ ЧАСТИ ИЛИ ЧАСТИ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ).

© 2025 Illumina, Inc. Все права защищены.

Все товарные знаки являются собственностью компании Illumina, Inc. или их соответствующих владельцев. Информацию о конкретных товарных знаках см. на веб-сайте www.illumina.com/company/legal.html.

# Содержание

Обзор	<b>1</b> 1
Обзор секвенирования	4
Рабочий процесс секвенирования	5
Компоненты прибора	8
Комплекты и принадлежности	15
Обзор комплектов	15
Компоненты набора реагентов	17
Компоненты набора NovaSeq Хр	21
Док-станция для поточной ячейки NovaSeq Хр	22
Расходные материалы и дополнительное оборудование, приобретаемые	
пользователем	23
Описание символов	28
Конфигурация системы	30
Запуск прибора	30
Настройки конфигурации	32
Рабочий процесс Standard: подготовка расходных	
материалов	40
Рекомендованные стандарты	40
Размораживание картриджей SBS и кластерных картриджей	40
Опорожнение бутылей для использованных реагентов	42
Подготовка поточной ячейки	43
Объединение и денатурирование библиотек для секвенирования	43
Рабочий процесс NovaSeq Xp: Подготовка расходных	
материалов	45
ч Краткий обзор рабочего процесса NovaSeg Xp	45
Методы	
Размораживание картриджей SBS и кластерных картриджей	47
Опорожнение бутылей для использованных реагентов	48
Подготовка поточной ячейки и док-станции	50
Дайте реагентам ЕхАтр оттаять.	50
Проверка вакуумного давления поточной ячейки	51
Объединение, денатурирование и загрузка библиотек для секвенирования	52

Документ № 100000019358, версия 18

Секвенирование	.58
Настройка запуска секвенирования	58
Отслеживание хода выполнения прогона	68
Поэтапная инициация запусков	69
Удаление запуска	70
Отсоединение положения № 30	70
Автоматическая промывка после запуска	71
Техническое обслуживание	.73
Профилактическое техническое обслуживание	73
Выполнение промывки в рамках техобслуживания	73
Обновление программного обеспечения	78
Поиск и устранение неисправностей	.80
Ресурсы поиска и устранения неисправностей	80
Файлы поиска и устранения неисправностей	80
Ошибки проверок перед запуском	81
Управление процессом: поиск и устранение неисправностей	82
Неудача запуска до кластеризации	83
Окончание запуска	84
Выключение прибора	85
Real-Time Analysis	.86
Обзор программного обеспечения Real-Time Analysis	86
Рабочий процесс Real-Time Analysis	89
Папки и файлы выходных данных	.93
Структура папок выходных данных секвенирования	93
Выходные файлы секвенирования	94
Безопасность Windows	95
Требования к паролям	. 95
Брандмауэр Windows	95
Набор технических средств для расширения возможностей по смягчению	
последствий	95
 Политики ограниченного использования программами	96
Особенности режима исследования для NovaSeq 6000Dx	98
Веление	98
Варианты планирования прогона на NovaSeg 6000Dx	98

Совместимость расходных материалов для прибора NovaSeq 6000Dx	
Индикаторы режима работы прибора NovaSeq 6000Dx	
Ресурсы и литература	
История изменений	

# Обзор

# Введение

Система секвенирования Illumina<sup>®</sup> NovaSeq<sup>™</sup> 6000 объединяет масштабируемую производительность и гибкую технологию секвенирования в платформе производственного уровня с эффективностью и экономичностью настольной системы.

## Характеристики

- Масштабируемое секвенирование система NovaSeq 6000 позволяет проводить секвенирование в промышленных масштабах в широком спектре приложений с получением высококачественных данных.
- Регулируемый объем выходных данных система NovaSeq 6000 предусматривает использование двойных поточных ячеек, обеспечивающее широкий диапазон выходной мощности. Можно секвенировать одну или две поточные ячейки с разной длиной считывания одновременно. Смешивайте и сочетайте четыре типа поточных ячеек и разных длин считывания.
- Структурированная поточная ячейка такая ячейка формирует плотно расположенные кластеры. Уменьшенное расстояние между нанолунками увеличивает плотность кластеров и объем данных.
- Смешивание ExAmp в системе система NovaSeq 6000 выполняет смешивание реагентов ExAmp с библиотекой, амплификацию библиотеки и генерацию кластера, упрощая рабочий процесс секвенирования.
- Загрузка в индивидуальные дорожки док-станция для поточной ячейки NovaSeq XP позволяет предварительно загружать библиотеки в индивидуальные дорожки поточной ячейки и снижает объем загрузки библиотек.
- Сканирование дорожек с высокой пропускной способностью в системе NovaSeq 6000 используется только камера с технологией двунаправленного сканирования, которая позволяет быстро делать снимки поточной ячейки одновременно по двум цветовым каналам.
- Real-Time Analysis (RTA) NovaSeq 6000 использует реализацию RTA под названием RTA3.
   Это интегрированное программное обеспечение анализирует изображения и определяет последовательность нуклеотидов.
- Интеграция в систему платформы BaseSpace Sequence Hub рабочий процесс секвенирования интегрирован с платформаой BaseSpace Sequence Hub — вычислительной средой для геномного анализа Illumina, хранения данных и совместной работы. По мере выполнения запуска файлы выходных данных направляются в эту среду в режиме реального времени.

- Готовность к использованию BaseSpace Clarity LIMS повышение операционной эффективности благодаря сквозному отслеживанию образцов и реагентов, автоматизированным рабочим процессам и интегрированной работе прибора.
- Интеграция с Illumina Connected Analytics Управляющее программное обеспечение NovaSeq начиная с версии 1.8, система интегрирована с Illumina Connected Analytics, облачной средой для геномного анализа Illumina, хранения данных и совместной работы. Если функция ICA в вашем регионе включена, вы можете выбрать свой домен ICA во время настройки прогона. По мере выполнения запуска файлы выходных данных направляются в эту среду в режиме реального времени.

#### Дополнительные источники информации

Страницы технической поддержки Система секвенирования NovaSeq 6000 на веб-сайте Illumina содержат дополнительные ресурсы, актуальные для системы. Они включают программное обеспечение, обучающие материалы, список совместимой продукции и перечисленные ниже документы. Всегда проверяйте наличие последних версий на страницах технической поддержки.

Ресурс	Описание
Руководство по технике безопасности и нормативно- правовому соответствию для систем серии NovaSeq (документ № 100000019357)	Содержит рекомендации по эксплуатационной безопасности, информацию о нормативно-правовом соответствии и маркировке прибора.
Руководство по нормативно- правовому соответствию считывающего устройства RFID (документ № 100000002699)	Содержит информацию об установленном на приборе считывающем устройстве радиочастотных идентификаторов (RFID), включая сертификаты соответствия, а также рекомендации по безопасности.
Руководство по применению праймеров серии NovaSeq (документ № 1000000022266)	Содержит информацию о замене секвенирующих праймеров Illumina на пользовательские праймеры.
Руководство по эксплуатации системы NovaSeq 6000 (документ № 1000000019358)	Содержит обзор компонентов прибора, инструкций по подготовке расходных материалов для секвенирования, инструкций по эксплуатации, а также процедур поиска и устранения неисправностей и технического обслуживания.

Документ № 100000019358, версия 18

# Обзор секвенирования

### Генерация кластеров

Во время генерации кластеров отдельные молекулы ДНК связываются споверхностью поточной кюветы, одновременно происходит амплификация для формирования кластеров. Для рабочего процесса Standard до генерации кластеров мастер-микс ExAmp смешивается с библиотеками на приборе. Для рабочего процесса NovaSeq XP реагенты ExAmp и библиотеки смешиваются и подаются в лунку поточной ячейки вне прибора. Объемы различаются в зависимости от типа поточной ячейки и рабочего процесса.

### Секвенирование

Кластеры визуализируются с помощью двунаправленного сканирования и химикатов двухканальной схемы секвенирования. Камера использует датчики красного и зеленого света для визуализации каждой полосы и одновременного создания красного и зеленого изображений всей полосы. После визуализации происходит распознавание оснований для кластеров в каждой области сканирования. Распознавание выполняется на основе соотношения красного и зеленого сигналов для каждого кластера, место расположения которых определяется структурированной поточной кюветой. Этот процесс повторяется для каждого цикла секвенирования.

### Анализ

По мере выполнения цикла секвенирования Управляющее программное обеспечение NovaSeq (NVCS) автоматически переносит файлы распознавания оснований (\*.cbcl) в указанное место для выходных данных с целью проведения анализа данных.

В зависимости от используемого приложения доступны несколько методов анализа. Дополнительную информацию можно получить на странице технической поддержки платформы BaseSpace Sequence Hub на веб-сайте компании Illumina.

## Рабочий процесс секвенирования





Разморозьте картриджи с реагентами SBS и реагентами для кластеризации.

Выполните объединение и денатурирование библиотек. Для рабочего процесса Standard добавьте библиотеки в пробирку для библиотеки. Для рабочего процесса NovaSeq XP загрузите смесь ExAmp/библиотека на поточную ячейку.

Для обоих рабочих процессов вставьте пробирку для библиотеки в размороженный картридж кластеризации.

Для получения дополнительной информации см. раздел «Генератор протокола денатурации и разбавления».



Выберите в интерфейсе ПО **Sequence** (Секвенирование) и укажите, одна поточная ячейка будет использоваться в данном запуске или две.

Выгрузите расходные материалы из предыдущего запуска и загрузите расходные материалы для текущего.



Укажите параметры запуска на экране Run Setup (Настройка запуска). Если настроено использование платформа BaseSpace Sequence Hub, войдите туда через экран входа. По окончании проверок перед запуском запуск начнется автоматически.



Отслеживайте выполнение прогона на экране Sequence (Секвенирование), на экране платформа BaseSpace Sequence Hub (если мониторинг прогона включен) или на сетевом компьютере с помощью Sequencing Analysis Viewer.

Данные передаются в указанную папку выходных данных.



Промывка прибора начинается автоматически после завершения секвенирования

### Методы загрузки библиотек

Библиотеки загружаются на поточную ячейку NovaSeq 6000 одним из двух способов в зависимости от выбранного рабочего процесса. Настройка запуска секвенирования зависит от рабочего процесса. Обязательно соблюдайте инструкции, составленные для вашего метода. См. раздел *Рабочий процесс Standard: подготовка расходных материалов* на странице 40 и *Рабочий процесс NovaSeq Xp: Подготовка расходных материалов* на странице 45.

Рабочий процесс	Загрузка пула библиотек и метод смешивания ExAmp	Возможность индивидуальной обработки дорожки и анализ данных	Загружаемый объем <sup>*</sup> , режимы SP/S1 — S2 — S4 (мкл)
Стандарт	Один объединённый пул	Единственный пул	150–225–465 мкл
	библиотеки загружается	библиотек распределяется	(вся поточная
	в пробирку для	и секвенируется на всех	ячейка)
	библиотеки, где	дорожках поточной ячейки.	
	смешивается с	Считывания со всех	
	реагентами ExAmp	дорожек анализируются	
	непосредственно на	в совокупности.	
	приборе, а затем		
	автоматически подается		
	в поточную ячейку для		
	кластеризации и		
	секвенирования. Перед		
	секвенированием		
	выполняется этап		
	активации, в ходе		
	которого реагенты из		
	картриджа		
	кластеризации и		
	пробирки для библиотеки		
	используются для		
	приготовления		
	кондиционирующей		
	смеси, повышающей		
	эффективность		
	кластеризации.		

Таблица 1 Методы загрузки библиотек

Рабочий процесс	Загрузка пула библиотек и метод смешивания ExAmp	Возможность индивидуальной обработки дорожки и анализ данных	Загружаемый объем <sup>*</sup> , режимы SP/S1 — S2 — S4 (мкл)
NovaSeq	Одна или несколько	Каждая библиотека	27–33–45 мкл
ХР	библиотек (в количестве,	загружается в отдельную	(индивидуальная
	соответствующем числу	дорожку поточной ячейки,	дорожка)
	дорожек поточной	которая далее	
	ячейки) вручную	секвенируется. Можно	
	смешиваются с	использовать различные	
	реагентами ЕхАтр вне	пулы, аликвоты одного пула	
	прибора и напрямую	или произвольные	
	загружаются в отдельные	комбинации. Считывания	
	дорожки поточной ячейки	с различных дорожек	
	NovaSeq XP c	анализируются	
	использованием док-	индивидуально или	
	станции для поточной	в совокупности	
	ячейки. Далее	соответственно.	
	заполненная поточная		
	ячейка загружается		
	в прибор для		
	кластеризации		
	и секвенирования. Перед		
	секвенированием этап		
	активации выполняется с		
	использованием пустой		
	пробирки для библиотеки,		
	в которой смешиваются		
	реагенты из картриджа		
	кластеризации для		
	приготовления		
	кондиционирующей		
	смеси, способствующей		
	повышению		
	эффективности		
	кластеризации.		

<sup>\*</sup>Для рабочего процесса NovaSeq Хр требуется, чтобы концентрация денатурированных библиотек была на 25–50 % ниже, чем при рабочем процессе Standard.

# Компоненты прибора

Прибор Система секвенирования NovaSeq 6000 состоит из следующих компонентов: монитор с сенсорным экраном, панель состояния, кнопка питания, порты USB и три отсека.





- А. **Монитор с сенсорным экраном** отображает интерфейс NVCS для настройки системы, запуска и мониторинга прогона.
- В. Отсек оптики здесь находятся оптические компоненты, которые позволяют визуализировать обе поверхности поточных ячеек.
- С. **Отсек для жидкостей** в этот отсек устанавливаются картриджи с реагентами и буфером, а также бутыли для слива использованных реагентов.
- D. Отсек поточной ячейки здесь располагаются поточные ячейки.
- Е. **Строка статуса** Отображает статус поточной кюветы: готова к секвенированию (зеленый), в обработке (голубой) или требует внимания оператора (оранжевый).
- F. Питание и порты USB обеспечивает доступ к кнопке питания и разъемам USB для периферийных комплектующих.

#### Отсек поточной ячейки

Отсек для поточной кюветы оснащен площадкой поточной кюветы, при этом слева располагается поточная кювета A, а справа — поточная кювета B. На каждой стороне есть четыре зажима, которые автоматически удерживают поточную ячейку в нужном положении и фиксируют ее.

Датчик для оптического выравнивания, установленный на платформе поточной ячейки, диагностирует и исправляет оптические проблемы. При появлении запроса NVCS датчик оптического выравнивания повторно выравнивает систему и настраивает фокус камеры для улучшения результатов секвенирования.

Рисунок 2. Площадка поточной кюветы



- А. Держатель поточной ячейки стороны А.
- В. Держатель поточной ячейки стороны Б.
- С. Зажим поточной ячейки (один из четырех на каждой стороне).
- D. Мишень центровки оптической системы.

Программное обеспечение контролирует открывание и закрывание дверцы отсека для поточных ячеек. Дверца автоматически открывается для загрузки поточной кюветы для проведения запуска или промывки в рамках техобслуживания. После загрузки программное обеспечение закрывает дверцу отсека, перемещает поточную ячейку в нужное положение, закрывает зажимы и включает вакуумный затвор. Датчики проверяют наличие поточной ячейки и ее совместимость с прибором.

## Отсек для жидкостей

Настройка цикла подразумевает наличие доступа к отсекам для жидкостей, чтобы загружать туда реагенты и буферные растворы и опорожнять бутыли для использованных реагентов. Отсек для жидкостей закрывается двумя дверцами, состоящими из двух совмещающихся друг с другом половинок для поточной ячейки А и для поточной ячейки В.



Рисунок 3. Компоненты отсека для жидкостей

- А. Малая бутыль для использованных реагентов предназначена для сбора использованных реагентов из картриджа кластера; оснащена держателем крышки для удобства хранения крышки.
- В. Большая бутыль для использованных реагентов предназначена для сбора использованных реагентов из картриджей буферных растворов и SBS; оснащена держателем крышки для удобства хранения крышки.
- С. Холодильник для реагентов охлаждает картридж SBS и кластерный картридж.
- D. Ящик холодильника для реагентов имеет кодированные цветными бирками положения: слева (серая этикетка) — для картриджа SBS, справа (оранжевая метка) для кластерного картриджа.
- Е. **Ящик для буферных растворов** в левой части находится большая бутыль для использованных реагентов, в правой располагается картридж с буфером.

#### Слив использованных реагентов

Система, управляющая потоками жидкостей, предназначена для отвода реагентов из картриджа кластеризации, которые могут представлять опасность, в небольшую бутыль для использованных реагентов. Реагенты из SBS и буферных картриджей направляются в большие бутыли для использованных реагентов. Однако существует риск перекрестного загрязнения между потоками сливаемых реагентов. Следует иметь в виду, что обе бутыли содержат потенциально опасные химические вещества. Подробную информацию о химическом составе см. в паспортах безопасности (SDS) веществ.

Если система настроена на сбор использованных реагентов во внешний резервуар, то поток для большой бутыли использованных реагентов будет направляться наружу. Реагенты кластерного картриджа всегда направляются в малую бутыль для использованных реагентов.

### Системное программное обеспечение

Пакет программного обеспечения прибора включает в себя встроенные приложения, которые выполняют запуски секвенирования и анализ, проводимый на приборе, а также соответствующие функциональные возможности.

- Управляющее программное обеспечение NovaSeq (NVCS) предоставляет пошаговые инструкции для настройки цикла секвенирования, управляет операциями прибора и отображает статистику по мере выполнения цикла. Чтобы напомнить правильный порядок разгрузки и загрузки расходных материалов, во время настройки запуска NVCS воспроизводит обучающие видеоролики.
- Real-Time Analysis (RTA) выполняет анализ изображения и распознавание оснований во время прогона. NovaSeq 6000 использует RTA3 с улучшенной архитектурой, безопасностью и другими функциями, направленными на оптимизацию производительности. Для получения дополнительной информации обращайтесь к разделу *Real-Time Analysis* на странице 86.
- Universal Copy Service (UCS) (Универсальная служба копирования) позволяет копировать выходные файлы из RTA3 и NVCS в папку выходных данных во время прогона. Если применимо, служба также передает данные в платформа BaseSpace Sequence Hub. Если Universal Copy Service прервана во время запуска, служба будет предпринимать многократные попытки восстановления связи и автоматического возобновления передачи данных.

#### Значки состояния

Значки состояния на панели интерфейса NVCS указывают на статус запуска. Цифра на значке указывает на количество состояний в статусе.

Когда статус прогона меняется, значок начинает мигать, чтобы предупредить пользователя. Выберите значок для просмотра описания состояния. Выберите **Acknowledge** (Подтвердить) для сброса сообщения, а затем выберите **Close** (Закрыть), чтобы закрыть диалоговое окно.

Значок состояния	Название состояния	Описание
	Состояние в порядке	Система в обычном состоянии.
	Обработка	Система выполняет обработку.
A	Предупреждение	Система выдала предупреждение, на него нужно обратить внимание. Предупреждения не останавливают запуск и не требуют обязательных действий перед продолжением работы.
0	Ошибка	Возникла ошибка. Ошибки требуют принятия определенных мер до перехода к выполнению запуска.

Таблица 2 Значки состояния NVCS

#### Управление процессом

Экран Process Management (Управление процессом) предоставляет доступ к вычислительному модулю (CE) и диску C. C помощью этого экрана можно отслеживать ход выполнения прогона, удалять прогоны и управлять дисковым пространством. Не удаляйте файлы и папки с диска C напрямую.

Экран Process Management (Управление процессом) отображает доступное дисковое пространство, пространство, использованное на СЕ и диске С, а также статус запусков в отношении использования дискового пространства. Столбцы Run Date (Дата запуска) и Name (Название) позволяют идентифицировать каждый запуск. Столбцы Run Status (Статус запуска), BaseSpace и Network (Сеть) показывают статус каждого из процессов в запуске.

Процесс	Значок	Описание
Статус запуска	Выполнение	Запуск выполняется.
	<b>О</b> Выполнено	В запуске завершено секвенирование.
Сеть	Копирование	Файлы копируются в папку выходных данных в сетевом расположении.
-	<b>О</b> Выполнено	Все файлы скопированы в папку выходных данных в сетевом расположении.
	Н/П	Неприменимо, поскольку запуск не сконфигурирован таким образом, чтобы файлы копировались в папку выходных данных в сетевом расположении, или же статус копирования файлов неизвестен.
		Для поиска и устранения неисправностей см. раздел <i>Управление</i> процессом: поиск и устранение неисправностей на странице 82.
Облачный	Загрузка	Файлы загружаются в выбранное облачное хранилище.
-	<b>О</b> Выполнено	Все файлы загружены в выбранное облачное хранилище.
	Н/П	Не применимо, поскольку прогон не настроен на загрузку в облако либо статус загрузки неизвестен. Для поиска и устранения неисправностей см. раздел <i>Управление</i> <i>процессом: поиск и устранение неисправностей</i> на странице 82.

#### Таблица З Значки статуса управления процессом

### Минимальные требования к объему свободного пространства

Перед началом прогона на поточной лунке необходимо обеспечить выполнение минимальных требований к объему свободного пространства на вычислительном модуле (СЕ) и диске С.

Для запусков с одной поточной ячейкой требуемый минимальный объем свободного пространства на диске составляет половину указанного в таблице значения.

Поточная ячейка	Пространство на диске СЕ на цикл (ГБ)	Пространство на диске С:\ на пару поточных ячеек (ГБ)
SP	0,5	5
S1	1,35	20
S2	2,7	20
S4	4,3	40

Таблица 4 Минимальные требования к объему свободного пространства для СЕ и диска С:\ при работе с двумя поточными лунками

Чтобы вычислить общий объём пространства, необходимого на вычислительном модуле (CE) для выполнения прогона, умножьте минимальное требуемое пространство CE на цикл на сумму длин Read 1, Read 2, Index 1 и Index 2 (см. раздел *Ввод параметров запуска* на странице 63). Например, для прогона на ячейке S4 с двумя лунками, 150 циклов в парном прочтении (paired-end) и длиной обоих индексов по 8 оснований, потребуется 1,37 ТБ пространства на вычислительном модуле (CE).

Для получения информации об очистке дискового пространства см. раздел *Удаление запуска* на странице 70.

# Комплекты и принадлежности

# Обзор комплектов

Для выполнения прогона на NovaSeq 6000 требуется набор реагентов NovaSeq 6000. Рабочий процесс NovaSeq Xp также требует набора NovaSeq XP. Эти наборы доступны в следующих комплектациях.

Полный перечень необходимых для прогона материалов и оборудования приведен в разделе *Расходные материалы и дополнительное оборудование, приобретаемые пользователем* на странице 23.

Таблица 5	Конфигурации	наборов
-----------	--------------	---------

Наименование набора	Реагенты v1.0 Номер по каталогу Illumina	Реагенты v1.5 Номер по каталогу Illumina
NovaSeq 6000 Набор реагентов S4 (300 циклов) — упаковка из 40 комплектов.	20039236	Н/П
NovaSeq 6000 Набор реагентов S4 (300 циклов) — упаковка из 20 комплектов.	20039234	Н/П
NovaSeq 6000 Набор реагентов S4 (300 циклов) — упаковка из 10 комплектов.	20039233	Н/П
NovaSeq 6000 Набор реагентов S4 (300 циклов)	20012866	20028312
NovaSeq 6000 Набор реагентов S4 (200 циклов)	20027466	20028313
NovaSeq 6000 Набор реагентов S4 (35 циклов)	Н/П	20044417
NovaSeq 6000 Набор реагентов S2 (300 циклов)	20012860	20028314
NovaSeq 6000 Набор реагентов S2 (200 циклов)	20012861	20028315
NovaSeq 6000 Набор реагентов S2 (100 циклов)	20012862	20028316
NovaSeq 6000 Набор реагентов S1 (300 циклов)	20012863	20028317
NovaSeq 6000 Набор реагентов S1 (200 циклов)	20012864	20028318
NovaSeq 6000 Набор реагентов S1 (100 циклов)	20012865	20028319
NovaSeq 6000 Набор реагентов SP (500 циклов)	20029137	20028402
NovaSeq 6000 Набор реагентов SP (300 циклов)	20027465	20028400
NovaSeq 6000 Набор реагентов SP (200 циклов)	20040326	20040719
NovaSeq 6000 Набор реагентов SP (100 циклов)	20027464	20028401

Документ № 100000019358, версия 18

#### Маркировка совместимости

Чтобы определить совместимые компоненты набора, на лунках и картриджах нанесены символы, обозначающие режим набора: **SP**, **S1**, **S2** или **S4**. Коллекторы NovaSeq Xp поддерживают различные режимы, а на этикетках указываются либо 2 дорожки (для поточных ячеек SP, S1 и S2), либо 4 дорожки (для поточных ячеек S4).

Нельзя использовать в одном и том же запуске компоненты, относящиеся к разным режимам. Например, нельзя сочетать картриджи S1 и поточную ячейку S2.

Смешивание картриджей SBS/CPE версии v1.0 и версии v1.5 не допускается и приводит к появлению сообщения об ошибке.

Режим комплекта	Отметка на этикетке	Описание
Компоненты набора SP	SP	Поточная ячейка SP обеспечивают получение от 650 до 800 миллионов одиночных считываний, проходящих через фильтр, с выходом до 250 Гб при 2 × 150 п. о. и выходом до 400 Гб при 2 × 250 п. о.
Компоненты набора S1	51	Поточные ячейки S1 обеспечивают получение до 1,6 миллиарда одинарных считываний, проходящих через фильтр, с выходом до 500 Гб при 2 × 150 п. о. Набор S1 обеспечивает быструю секвенирование меньшего количества образцов для большинства задач с высоким уровнем производительности.
Компоненты комлекта S2	S2	Поточные ячейки S2 обеспечивают получение до 4,1 миллиарда одинарных считываний, проходящих через фильтр, с выходом до 1250 Гб при 2 × 150 п. о. Это вариант поточной ячейки с двумя дорожками. Поточные ячейки S2 обеспечивают быстрое секвенирование для задач, требующих наибольшей производительности, при этом они обеспечивают большее число считываний, чем поточные ячейки S1, что обуславливает больший выход секвенирования.
Компоненты набора S4	54	Поточные ячейки S4 обеспечивают получение до 10 миллиардов одинарных считываний, проходящих через фильтр, с выходом до 3000 Гб при 2 × 150 п. о. Это вариант поточной ячейки с четырьмя дорожками, который разработан для обеспечения максимального выхода. Этот комплект позволяет выполнять экономичное полногеномное секвенирование для различных видов и с разной глубиной покрытия.

Подробные технические характеристики для каждого режима представлены на веб-сайте компании Системы секвенирования NovaSeq 6000 на странице продукта Illumina.

# Компоненты набора реагентов

Каждый набор реагентов NovaSeq 6000 содержит следующие компоненты. Каждый компонент использует радиочастотную идентификацию (RFID) для точного отслеживания использования расходных материалов и совместимости.

После получения набора незамедлительно поместите компоненты на хранение при указанной температуре, чтобы гарантировать надлежащее качество работы.

Количество	Компонент комплекта	Температура хранения
1	Пробирка для библиотеки	1530 °C
1	Поточная ячейка	от 2 °С до 8 °С
1	Картридж с буфером	1530 °C
1	Картридж кластера	от –25 °С до –15 °С
1	Картридж SBS	от –25 °С до –15 °С

Таблица 6 Компоненты набора

Не допускайте падения картриджей. В случае падения картриджа существует риск получения травм. При утечке реагентов из картриджей может возникнуть раздражение кожи. Перед использованием проверьте картриджи на наличие трещин.

## Пробирка для библиотеки

Пробирка для библиотеки NovaSeq 6000 представляет собой пробирку диаметром 16 мм, которая вставляется в позицию №8 картриджа кластеризации. Положение № 8 снабжено этикеткой Library Tube (Пробирка для библиотеки) и обведено оранжевым цветом для лучшей идентификации. Пробирка снабжена крышкой с резьбой, позволяющей при необходимости поместить библиотеки на хранение. Перед установкой в картридж убедитесь, что колпачок снят.

Рисунок 4. Пробирка для библиотеки



Пробирка для библиотеки используется одним из двух способов в зависимости от рабочего процесса.

- Standard объединенные и денатурированные библиотеки добавляют в пробирку для библиотеки, затем вставляют эту пробирку без колпачка в картридж кластера. После начала прогона прибор смешивает библиотеки с реагентами ExAmp в пробирке для библиотеки, после чего смесь автоматически переносится в поточнуюячейку.
- NovaSeq Xp пустая пробирка для библиотеки без колпачка загружается в картридж кластера. Во время прогона реагенты смешиваются в пробирке для библиотеки перед подачей в поточную ячейку.

### Поточная ячейка

Поточная ячейка NovaSeq 6000 представляет собой структурированную поточную ячейку, заключенную в картридж. Поточная ячейка — это подложка на основе микрочастиц стекла, содержащая миллиарды нанолунок в упорядоченном расположении, что увеличивает количество выходных прочтений и объем данных секвенирования. В нанолунках генерируются кластеры, на которых затем проводится реакция секвенирования.

Каждая поточная ячейка содержит несколько дорожек для секвенирования объединенных библиотек. Поточные ячейки SP, S1 и S2 имеют по две дорожки, а поточная ячейка S4 имеет четыре дорожки. Каждая дорожка визуализируется набором полос, а затем программное обеспечение разделяет изображение каждой полосы на меньшие части, называемые плитками. Для получения дополнительной информации см. раздел *Области сканирования поточной кюветы* на странице 87.

Если вы используете поточную ячейку S1, обязательно пользуйтесь NVCS v1.3.1 или более поздней версией. Если вы используете поточную ячейку SP, обязательно пользуйтесь NVCS v1.6 или более поздней версией.

#### Рисунок 5. Поточные ячейки



- А. Картридж поточной ячейки
- В. Поточная ячейка с четырьмя дорожками (S4).

#### Документ № 100000019358, версия 18

С. Поточная ячейка с двумя дорожками (SP, S1 и S2).

На нижней стороне каждой поточной ячейки имеются четыре прокладки. Библиотеки и реагенты поступают на дорожки поточной ячейки через прокладки на входе поточной ячейки. Использованные реагенты выводятся из дорожек через прокладки на выходе.



Рисунок 6. Перевернутая поточная ячейка



- А. Выходной конец
- В. Входной конец
- С. Прокладка (одна из четырех)

#### Картриджи буферных растворов, кластеризации и SBS

Картриджи с буферными растворами, с растворами для кластеризации и с картриджами SBS для систем NovaSeq 6000 имеют запечатанные резервуары, предварительно наполненные реагентами, буферными и раствором для промывки. В каждый комплект реагентов включено по одному картриджу каждого типа.

Картриджи непосредственно загружаются в прибор и помечены по цветовой схеме, а также снабжены этикетками для уменьшения ошибок при загрузке. Направляющие в ящиках холодильника для реагентов и для буфера обеспечивают надлежащую ориентацию.

На этикетке картриджа указаны поддерживаемые режимы, такие как S1/S2 или SP/S1/S2. Картриджи можно использовать только для указанных на этикетке режимов. Таблица 7 Картриджи с реагентами

Картридж	Описание
NovaSeq 6000 Картридж с буфером	Заранее заполнен буферными растворами для секвенирования, весит до 6,8 кг (15 фунтов). Пластмассовая ручка помогает переносить картридж, загружать и выгружать его. Вырезы в верхней пластине позволяют устанавливать картриджи друг на друга.
NovaSeq 6000 Картридж кластера	Предварительно заполнены реагентами для кластеризации, индексирования, парного считывания и раствором для промывки. Включает отмеченное специальным знаком положение для пробирки для библиотеки. Оранжевая маркировка отличает картридж кластеризации от картриджа SBS.
NovaSeq 6000 Картридж SBS	Предварительно заполнен реагентами для секвенирования в объемах, соответствующих количеству циклов, поддерживаемому набором (500, 300, 200, 100 или 35). Каждое изтрех положений реагентов имеет зарезервированное для автоматической промывки после цикла соседнее положение. От картриджа кластера картридж SBS отличается этикеткой серого цвета.

### Резервуары картриджа кластера

### Съемный резервуар

Реагент для денатурации в позиции №30 содержит формамид — органическое соединение из класса амидов, обладающее репродуктивной токсичностью. Для безопасной утилизации неиспользованного реагента после цикла секвенирования эту емкость можно снять.

i Не кладите картридж SBS поверх картриджа кластера, так как это может привести к отделению положения № 30.

#### Зарезервированные емкости

Три резервуара предназначены для пользовательских праймеров, а пустое положение зарезервировано для пробирки для библиотеки. С целью прослеживания образцов пробирка для библиотеки загружается в картридж кластера во время настройки запуска и остается в картридже до окончания запуска.

Рисунок 7. Пронумерованные емкости



Положение	Для чего зарезервировано
5, 6 и 7	Дополнительные пользовательские праймеры
8	Пробирка для библиотеки

Для получения дополнительной информации о пользовательских праймерах см. *Руководство по* применению праймеров серии NovaSeq (документ № 1000000022266).

# Компоненты набора NovaSeq Xp

Каждый набор NovaSeq XP является одноразовым и содержит следующие компоненты. После получения набора незамедлительно поместите компоненты на хранение при указанной температуре, чтобы гарантировать надлежащее качество работы.

Расходные материалы DPX1 и DPX2 могут быть промаркированы как JPX1 и JPX2. Оба варианта совместимы с наборами реагентов версий v1.0 и v1.5. DPX3 также совместим с наборами реагентов v1.0 и v1.5.

Количество	Компонент комплекта	Температура хранения
1	DPX1/JPX1	от –25 °С до –15 °С
1	DPX2/JPX2	от –25 °С до –15 °С
1	DPX3	от –25 °С до –15 °С
1	Коллектор NovaSeq Xp	Оставьте вместе с набором или храните при комнатной температуре.

#### Таблица 8 Компоненты набора NovaSeq Xp

#### Реагенты набора Хр

DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 и DPX3 — это реагенты ExAmp, предоставляемые в отдельных пробирках для рабочего процесса NovaSeq XP. Объединение этих реагентов позволяет получить основной реактивный раствор ExAmp, который смешивается с пулами библиотек перед загрузкой на лунку.

### Коллектор NovaSeq Xp

Коллектор NovaSeq XP устанавливается на док-станцию для поточной ячейки NovaSeq XP для прямой загрузки пулов библиотек в отдельные дорожки поточной ячейки. Опоры на обеих сторонах коллектора NovaSeq Xp предназначены для облегчения установки док-станции.

Коллекторы NovaSeq XP имеют конфигурацию с двумя лунками и четырьмя лунками в соответствии с поточными ячейками на две дорожки и четыре дорожки. Каждая лунка соответствует дорожке поточной ячейки. Поскольку поточная ячейка загружается в докстанцию для поточной ячейки NovaSeq Xp вверх дном, лунки нумеруются справа налево в соответствии с нумерацией дорожек на перевернутой поточной ячейке.

Рисунок 8. Коллекторы NovaSeq Хр с нумерованными лунками

3 2 1

## Док-станция для поточной ячейки NovaSeq Xp

Док-станция для поточной ячейки NovaSeq XP — это вспомогательная принадлежность многоразового использования для загрузки библиотек непосредственно на поточную ячейку. Поточную ячейку переворачивают и загружают в док-станцию, а коллектор NovaSeq XP устанавливается над поточной ячейкой.

Два выступа (под фиксатором) и две пружины направляют поточную ячейку при загрузке и обеспечивают надлежащую ориентацию. Вырезы удерживают опоры коллектора NovaSeq XP в правильной ориентации и ровном положении. Магнитный зажим вращается на 180° для фиксации коллектора NovaSeq XP над поточной ячейкой.

Рисунок 9. Док-станция для поточной ячейки NovaSeq Хр



- А. Выступы (под фиксатором), направляющие ячейку при загрузке.
- В. Пружины, выравнивающие поточную ячейку.
- С. Вырезы для удерживания опор коллектора NovaSeq XP
- D. Зажим для взаимной фиксации поточной ячейки и коллектора NovaSeq XP

# Расходные материалы и дополнительное оборудование, приобретаемые пользователем

Для секвенирования, подготовки расходных материалов и технического обслуживания системы используются следующие расходные материалы и оборудование, приобретаемые пользователем.

Расходный материал	Поставщик	Назначение
1 N NaOH	Поставщик общелабораторного оборудования	Разведение до 0,2 N для денатурирования библиотек.
Флакон для центрифугирования, 500 мл	Поставщик общелабораторного оборудования	Разведение Tween 20 для промывки в рамках техобслуживания.
Пробирка для центрифуги, 30 мл	Поставщик общелабораторного оборудования	Разведение NaOCI для промывки в рамках техобслуживания.

#### Расходные материалы

Документ № 100000019358, версия 18

Расходный материал	Поставщик	Назначение
Одноразовые перчатки, неопудренные	Поставщик общелабораторного оборудования	Общего назначения
Салфетки, пропитанные 70 % изопропиловым спиртом или Спиртовые салфетки с пропиткой 70% этанолом	VWR, номер по каталогу 95041-714 (или эквивалент) Поставщик общелабораторного оборудования	Очистка компонентов перед запуском, общее назначение.
Лабораторные салфетки из безворсового материала	VWR, номер по каталогу 21905-026 (или эквивалент)	Сушка поверхности поточной ячейки, общее назначение.
Пробирка для микроцентрифугирования, 1,5 мл	VWR, номер по каталогу 20170-038 (или эквивалент).	Объединение объемов веществ при разведении NaOH и библиотеки.
NaOCl ч.д.а., 5%	Sigma-Aldrich, номер по каталогу 239305	Промывка в рамках техобслуживания.
Комплект реагентов NovaSeq 6000	Illumina, см. <i>Обзор</i> <i>комплектов</i> на странице 15	Выполнение запуска секвенирования.
Наконечники пипеток, 20 мкл	Поставщик общелабораторного оборудования	Дозирование для разведения и заполнения библиотек.
Наконечники пипеток, 200 мкл	Поставщик общелабораторного оборудования	Дозирование для разведения и заполнения библиотек.
Наконечники пипеток, 1000 мкл	Поставщик общелабораторного оборудования	Дозирование для разведения и заполнения библиотек.
Изопропиловый спирт (99%-ный), чистый для анализа или для спектрофотометрического анализа, бутыль 100 мл	Поставщик общелабораторного оборудования	Периодическая очистка оптических компонентов и обслуживание картриджа для очистки объектива.
Tris-HCL, pH 7.0	Поставщик общелабораторного оборудования	Нейтрализация денатурированных библиотек.

Расходный материал	Поставщик	Назначение
Твин 20	Sigma-Aldrich, номер по каталогу Р7949	Промывка в рамках техобслуживания.
Вода, ультрачистая	Поставщик общелабораторного оборудования	Разведение NaOH для денатурирования библиотек. Разведение Tween 20 и гипохлорита натрия для промывки в рамках техобслуживания.
<b>[рабочий процесс NovaSeq XP]</b> Один из следующих наборов: • Набор NovaSeq XP 2-Lane • Набор NovaSeq XP 4-Lane	<ul> <li>Illumina:</li> <li>Номер по каталогу 20021664.</li> <li>Номер по каталогу 20021665.</li> </ul>	<ul> <li>Ручная загрузка библиотек</li> <li>в поточную ячейку.</li> <li>Двухдорожный набор для поточных ячеек SP, S1 и S2</li> <li>Четырехдорожный набор для поточных ячеек S4.</li> </ul>
<b>[рабочий процесс NovaSeq</b> XP] Один из следующих наборов: • Набор NovaSeq XP 2-Lane v1.5 • Набор NovaSeq XP 4-Lane v1.5	<ul> <li>Шитіпа:</li> <li>Номер по каталогу 20043130.</li> <li>Номер по каталогу 20043131.</li> </ul>	<ul> <li>Ручная загрузка библиотек</li> <li>в поточную ячейку.</li> <li>Двухдорожный набор для поточных ячеек SP, S1 и S2</li> <li>Четырехдорожный набор для поточных ячеек S4.</li> </ul>
[рабочий процесс NovaSeq XP] пробирки объемом 0,5 мл и 1,7 мл	Поставщик общелабораторного оборудования	Требуются для смешивания ExAmp.
[рабочий процесс NovaSeq XP] [Необязательно] Одна из указанных далее упаковок коллектора: • Упаковка коллектора NovaSeq XP 2-Lane • Упаковка коллектора NovaSeq XP 4-Lane	Illumina: • Номер по каталогу 20021666. • № по каталогу 20021667	Запасные коллекторы NovaSeq XP для ручной загрузки библиотек в поточную ячейку.
[Необязательно] PhiX Control v3	Illumina, номер по каталогу FC-110-3001	Внесение в контроль PhiX.

#### Расходные материалы в наборах Illumina

Для секвенирования одной поточной ячейки требуется один набор Комплект реагентов NovaSeq 6000. Каждый набор содержит несколько видов расходных материалов, перечисленных в следующей таблице. Для циклов с двумя поточными кюветами используется два комплекта.

Расходный материал (по одному в каждом)	Назначение
Картридж с буфером	Обеспечивает наличие буферных растворов, поддерживающих секвенирование в запуске.
Картридж кластера	Обеспечивает реагенты для кластеризации, индексирования и считывания парных концевых фрагментов в цикле.
Поточная ячейка	В поточной ячейке происходят реакции кластеризации и секвенирования.
Картридж SBS	Обеспечивает наличие реагентов, поддерживающих секвенирование в цикле.
Пробирка для библиотеки	Пустая пробирка, используемая для хранения объединенных и денатурированных библиотек, приобретаемых заказчиком, или подготовки кондиционирующей смеси для повышения эффективности кластеризации при секвенировании.

Таблица 9 Расходные материалы в Комплект реагентов NovaSeq 6000

Если вы используете рабочий процесс NovaSeq XP для непосредственной загрузки библиотек в поточную ячейку, дополните каждый набор реагентов одним набором NovaSeq XP. Каждый набор NovaSeq XP состоит из следующих расходных материалов.

Расходные материалы DPX1 и DPX2 могут быть промаркированы как JPX1 и JPX2. Оба варианта совместимы с наборами реагентов версий v1.0 и v1.5. DPX3 также совместим с наборами реагентов v1.0 и v1.5.

#### Таблица 10 Расходные материалы из набора NovaSeq XP

Расходный материал (по одному в каждом)	Назначение
DPX1/JPX1	Подготовка мастер-микса ExAmp.
DPX2/JPX2	
DPX3	
Коллектор NovaSeq Хр	Загрузка библиотек в поточную ячейку.

Документ № 100000019358, версия 18

#### Указания в отношении ультрачистой воды

При работе с прибором используйте только ультрачистую или деионизированную воду. Запрещается использовать водопроводную воду. Используйте воду только следующих классов или эквиваленты:

- деионизированная вода;
- очищенная вода Illumina PW1;
- вода с сопротивлением 18 МОм (мегаом)
- вода Milli-Q;
- вода Super-Q;
- вода для молекулярно-биологических исследований.

#### Оборудование

Позиция	Источник
Морозильная камера, от -25 до -15 °C	Поставщик общелабораторного оборудования
Мерный цилиндр, 500 мл, стерильный	Поставщик общелабораторного оборудования
Емкость для льда	Поставщик общелабораторного оборудования
Пипетка, 20 мкл	Поставщик общелабораторного оборудования
Пипетка, 200 мкл	Поставщик общелабораторного оборудования
Пипетка, 1000 мкл	Поставщик общелабораторного оборудования
Холодильник, от 2 до 8 °C	Поставщик общелабораторного оборудования
Ванна, емкость для водяной бани*	Поставщик общелабораторного оборудования
[Рабочий процесс NovaSeq Xp.] Док-станция для поточной ячейки NovaSeq XP	Illumina, номер по каталогу 20021663

\* Используйте ванну, в которой помещаются два картриджа с реагентами и обеспечивается соответствующий уровень воды. Пример достаточно размера емкости: (61 см × 91,4 см × 25,4 см) (24 дюйма × 36 дюймов × 10 дюймов).

## Описание символов

В таблице ниже описаны символы, указанные на расходных материалах или их упаковке.

Символ	Описание
	Срок годности расходного материала. Для получения оптимальных результатов расходные материалы следует использовать до указанной даты.
	Указывает производителя (Illumina).
RUO	Назначение — только для исследовательских целей (RUO).
REF	Обозначает номер детали, чтобы можно было идентифицировать расходный материал <sup>1</sup> .
LOT	Обозначает код партии, чтобы можно было идентифицировать партию или серию, в которой был изготовлен тот или иной расходный материал <sup>1</sup> .
SN	Указывает серийный номер.
	Обозначает необходимость защищать от света или тепла. Хранить вдали от прямых солнечных лучей.
	Указывает на опасность для здоровья.
	Обозначает предупреждение об опасности.
	Диапазон температур хранения в градусах Цельсия. Храните расходные материалы при температурах в пределах указанного диапазона².

<sup>1</sup> Номер REF обозначает отдельные компоненты, а номер LOT — партию или серию, к которой относится такой компонент.

Документ № 100000019358, версия 18

<sup>2</sup> Температурные условия при хранении и транспортировке могут отличаться.

Документ № 100000019358, версия 18

# Конфигурация системы

После первого включения системы запускается Управляющее программное обеспечение NovaSeq и отображается ряд экранов, которые помогают пользователю осуществить первоначальную настройку. Первоначальная настройка включает проверку системы для подтверждения работы прибора и конфигурирование системных настроек.

Если вы хотите изменить системные настройки после первоначальной настройки, выберите команду System Settings (Системные настройки) в управляющем программном обеспечении. Эта команда открывает вкладки Settings (Настройки), Network Access (Доступ к сети) и Customization (Пользовательская настройка), которые открывают вам доступ ко всем настройкам управляющего программного обеспечения и к сетевым настройкам Windows.

#### Учетные записи операционной системы

Для получения информации об учетных записях операционной системы и паролях см. раздел *Требования к паролям* на странице 95 и *«Безопасность и работа в сети»*.

#### Валидационные запуски

Перед первым секвенированием экспериментальных библиотек можно выполнить валидационный запуск, но это не обязательно. В ходе валидационного запуска секвенируется 100 % библиотеки PhiX, выступающей в роли контрольной; это делается для подтверждения работы системы. Для получения инструкций обращайтесь к разделу *Секвенирование* на странице 58.

# Запуск прибора

1. Переведите переключатель на задней панели прибора в положение Вкл. ().

Рисунок 10. Местоположение выключателя питания



2. Дождитесь, пока кнопка питания на правой стороне прибора начнет светиться синим, затем нажмите ее.

#### Рисунок 11. Расположение кнопки питания

#### Учетные записи пользователей

В NVCS v1.5 и более новых версиях существует два типа учетных записей: администратор и пользователь. Разрешения для каждого типа пользователя приведены в таблице ниже.

Разрешения	Администратор	Пользователь
Настройка, запуск, мониторинг запусков секвенирования	Х	X
Загрузка и обновление программного обеспечения	X	
Просмотр статуса активного запуска, запущенного другим пользователем	X	
Прекращение неотвечающего процесса UCS	X	

Путь к месту хранения файлов с данными приложения — C:/ProgramData. Место установки приложений — C:/Program Files. NVCS запускается как полноэкранное приложение для обоих типов учетных записей.

#### Войдите в систему

- 1. Когда операционная система загрузится, войдите в Windows с помощью имени пользователя и пароля учреждения.
- 2. Откройте NVCS.

Программное обеспечение запускается и инициализирует систему. Когда инициализация будет завершена, появится главная страница. NVCS запускается как пользовательское приложение. Если вы вошли в систему не как администратор и пытаетесь использовать
функцию, которая требует прав администратора, например обновление программного обеспечения (Software Update), то вы увидите сообщение о необходимости войти в систему как администратор.

Чтобы получать информацию о выполнении запуска секвенирования, не выходите из системы, пока NVCS работает и пока идет запуск секвенирования.

## Настройки конфигурации

NVCS предоставляет возможность настраивать следующее:

- Run Mode (Режим запуска) (ручной или с использованием файлов)
- Рабочий процесс NovaSeq Xp
- Облачный хостинг (платформа BaseSpace Sequence Hub или Illumina Connected Analytics)
- Обновление программного обеспечения
- Перед настройкой Workflow Selection (Выбор рабочего процесса) или Automatic Checks for Software Updates (Автоматически проверять обновления программного обеспечения) убедитесь, что был настроен Mode Selection (Выбор режима).

#### Режимы настройки запусков

- Manual (Ручной режим) этот режим принят по умолчанию и отправляет данные в указанную папку выходных данных для последующего анализа.
- File-Based (Режим с использованием файлов) режим, в котором для задания параметров прогона используются файлы из BaseSpace Clarity LIMS или другой LIMS-системы. Дополнительную информацию см. в разделе Конфигурирование выходных данных LIMS на странице 34.
- Server-Based (Режим с использованием сервера) режим, в котором параметры прогона задаются с помощью URL-адреса сервера LIMS.

При конфигурировании режима настройки запуска обязательно укажите существующее место расположения папки настройки запуска. Указывать эту папку обязательно; если система указывает на недействительность места, значит, указанное место расположения не существует.

Все режимы настройки прогона включают возможность отправки данных на платформа BaseSpace Sequence Hub или Illumina Connected Analytics для хранения и анализа.

#### Настройка ручного режима

- В основном меню выберите пункт Settings (Настройки).
   Откроется вкладка Mode Selection (Выбор режима) экрана Settings (Настройки).
- 2. Выберите Manual (Ручной).

Документ № 100000019358, версия 18

3. [Дополнительно.] Введите или просмотрите желаемый сетевой адрес для папки выходных данных.

Не указывайте расположение на дисках C, D или Z. Это приведет к ошибке недопустимого диска.

Эта настройка указывает место расположения, используемое по умолчанию. Место расположения папки выходных данных можно изменять для каждого запуска.

4. [Дополнительно.] Выберите Send Instrument Performance Data to Illumina (Отправить данные о производительности прибора компании Illumina), чтобы включить службу мониторинга Illumina Proactive. Название настройки в интерфейсе программного обеспечения может отличаться от названия в настоящем руководстве (в зависимости от используемой версии NVCS).

При включении этой настройки в Illumina будут отправляться данные о работе прибора. Эти данные помогают компании Illumina в поиске и устранении неисправностей и в распознавании потенциальных сбоев, позволяя выполнять профилактическое техническое обслуживание и увеличивать продолжительность бесперебойной работы прибора. Дополнительную информацию о преимуществах этой службы см. в документе Illumina Proactive Technical Note (*Tехническая записка о службе мониторинга Illumina Proactive*) (документ № 100000052503). Данная служба:

- не отправляет данные секвенирования;
- требует подключения прибора к сети с доступом в Интернет;
- по умолчанию включена. Чтобы отказаться от использования этой службы, снимите флажок Send Instrument Performance Data to Illumina (Отправить данные о производительности прибора компании Illumina).
- 5. Нажмите **Save** (Сохранить).

#### Настройка режима с использованием файлов

- В основном меню выберите пункт Settings (Настройки).
   Откроется вкладка Mode Selection (Выбор режима) экрана Settings (Настройки).
- 2. Выберите File-Based (С использованием файлов).
- 3. Введите или просмотрите желаемый сетевой адрес для папки настройки цикла, в котором находятся файлы LIMS .

Удостоверьтесь в том, что нужные файлы LIMS добавлены в папку настроек запуска до того, как вы приступите к его настройке. Во время настройки запуска программное обеспечение использует идентификатор пробирки для библиотеки или идентификатор поточной ячейки для определения местонахождения файлов для текущего запуска.

4. [Дополнительно.] Введите или просмотрите желаемый сетевой адрес для папки выходных данных.

Не указывайте расположение на дисках C, D или Z. Это приведет к ошибке недопустимого диска.

Место расположения папки выходных данных можно изменять для каждого запуска.

5. [Дополнительно.] Выберите Send Instrument Performance Data to Illumina (Отправить данные о производительности прибора компании Illumina), чтобы включить службу мониторинга Illumina Proactive. Название настройки в интерфейсе программного обеспечения может отличаться от названия в настоящем руководстве (в зависимости от используемой версии NVCS).

При включении этой настройки в Illumina будут отправляться данные о работе прибора. Эти данные помогают компании Illumina в поиске и устранении неисправностей и в распознавании потенциальных сбоев, позволяя выполнять профилактическое техническое обслуживание и увеличивать продолжительность бесперебойной работы прибора. Дополнительную информацию о преимуществах этой службы см. в документе Illumina Proactive Technical Note (*Техническая записка о службе мониторинга Illumina Proactive*) (документ № 100000052503). Данная служба:

- не отправляет данные секвенирования;
- требует подключения прибора к сети с доступом в Интернет;
- по умолчанию включена. Чтобы отказаться от использования этой службы, снимите флажок Send Instrument Performance Data to Illumina (Отправить данные о производительности прибора компании Illumina).

Если эта функция включена, для нее требуется подключение внешнего интернет-соединения.

6. Нажмите **Save** (Сохранить).

#### Конфигурирование выходных данных LIMS

Если ваша система настроена на файловый режим и вы используете ПО LIMS, отличное от BaseSpace Clarity LIMS, настройте LIMS на создание файла настройки прогона в формате JSON. Для рабочего процесса Standard имя файла должно совпадать с идентификационным номером пробирки для библиотеки. Поле с идентификационным номером поточной ячейки в файле можно оставить пустым. Для рабочего процесса NovaSeq Xp имя файла должно совпадать с идентификационным номером поточной ячейки, а идентификационные номера поточной ячейки и библиотеки должны быть указаны в файле.В имени файла и значениях не учитывается регистр.

Внешнее ПО LIMS может использовать API NovaSeq LIMS для взаимодействия с NovaSeq 6000. Обратитесь в техническую поддержку Illumina за дополнительной информацией о конечных точках API или режиме на основе сервера LIMS.

Название поля	Значение
run_name	Предпочтительное название запуска, которое может содержать буквенно-цифровое символы, дефисы
	и подчеркивания

Документ № 100000019358, версия 18

Название поля	Значение
run_mode	Один из следующих режимов: • S1 • SP • S2 • S4
workflow_type	NoIndex, SingleIndex или DualIndex
librarytube_ID	Метка RFID на пробирке с библиотекой
sample_loading_type	NovaSeqStandard или NovaSeq Хр
Flowcell_ID	Идентификационный номер поточной кюветы
paired_end	True (Истина) или False (Ложь)
read1	Значение до 251 (дополнительные циклы считываний УМИ могут быть до 259)
read2	Значение до 251 (дополнительные циклы считываний УМИ могут быть до 259)
index_read1	Любое значение
index_read2	Любое значение
output_folder	Путь к папке выходных данных с двумя обратными косыми чертами для последовательности выхода
протокол анализа.	Путь к протоколу анализов или иному файлу в формате CSV (*.csv) с двумя обратными косыми чертами для последовательности выхода
use_basespace	True (Истина) или False (Ложь)
basespace_mode	RunMonitoringOnly или RunMonitoringAndStorage
use_custom_read1_primer	True (Истина) или False (Ложь)
use_custom_read2_primer	True (Истина) или False (Ложь)
use_custom_index_read1_ primer	True (Истина) или False (Ложь)
use_custom_index_read2_ primer	True (Истина) или False (Ложь)

\* Регибридизация не доступна в ПО NVCS версии v1.4.0 или более ранних версиях.

Пример файла JSON с именем H6655DMXX.json:

```
{
"run_name": "2x151_PhiX",
"run_mode": "S2",
```

Документ № 100000019358, версия 18

```
"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": "\\\\sgnt-prd-isi01\\NovaSEQ\\SeqRuns",
"attachment": "\\\\sqnt-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
```

#### Настройка индексных циклов, используемых по умолчанию

Вы можете настроить количество индексных циклов, используемых по умолчанию для рабочего процесса Standard, следующим образом.

- В основном меню выберите пункт Settings (Настройки).
   Откроется вкладка Mode Selection (Выбор режима) экрана Settings (Настройки).
- 2. Выберите вкладку Workflow Selection (Выбор рабочего процесса).
- 3. Введите количество индексных циклов, используемых по умолчанию, в текстовом поле **Index Cycles** (Индексные циклы).
- 4. Нажмите Save (Сохранить).

## Рабочие процессы NovaSeq Standard и NovaSeq Хр

В рабочих процессах NovaSeq Standard и NovaSeq Хр используется запатентованная компанией Illumina химическая реакция ExAmp.

#### Рабочий процесс Standard

Стандартный рабочий процесс NovaSeq автоматизирует два ключевых этапа фирменной кластерной химии ExAmp от Illumina непосредственно на приборе.

- подготовка смеси ExAmp Master Mix;
- перенос смеси Master Mix в поточную ячейку.

Подготовка и доставка мастер-микса на приборе минимизирует взаимодействие с пользователем и снижает вариативность в подготовленной смеси.

В рамках настройки запуска для рабочего процесса Standard пробирка для библиотек, содержащая денатурированный и нейтрализованный пул библиотек в рекомендуемой концентрации, вставляется в положение № 8 картриджа кластера. Для получения дополнительной информации о рекомендуемых концентрациях см. раздел «Генератор протоколов денатурации и разведения». После инициирования запуска последующие этапы происходят на приборе и не требуют взаимодействия с пользователем. Это включает перенос реагентов ЕхАтр из картриджа кластеризации в пробирку с библиотекой, приготовление смеси реагентов и пула библиотек, а также подачу подготовленной смеси во все лунки поточной ячейки.

После кластеризации на приборе выполняется серия этапов, общих для обоих рабочих процессов. К этим этапам относятся нанесение кондиционирующей смеси на кластеризованную поточную ячейку и дополнительные этапы химической реакции для подготовки кластеров к секвенированию путем синтеза. Смесь для кондиционирования готовится в процессе кластеризации с использованием реагентов из картриджа кластеризации и пробирки с библиотекой, вставленной во время настройки прогона. Смесь для кондиционирования помогает повысить эффективность кластеризации на приборе NovaSeq 6000.

## Рабочий процесс NovaSeq XP

Рабочий процесс NovaSeq XP позволяет загружать разные библиотеки или пулы библиотек в отдельные лунки поточной ячейки NovaSeq с помощью док-станции для поточной ячейки NovaSeq XP и набора расходных материалов, соответствующего типу ячейки (набор на 2 лунки NovaSeq XP или на 4 лунки NovaSeq XP). Набор NovaSeq XP содержит реагенты ExAmp, необходимые для кластеризации, и коллектор, необходимый для загрузки по лункам.

Смесь реагентов ExAmp и библиотеки подготавливается и загружается на индивидуальные дорожки поточной ячейки с помощью док-станции для поточной ячейки NovaSeq XP и коллектора NovaSeq XP. Для подготовки смеси реагентов ExAmp и библиотеки и ее внесения в коллектор для самозаполнения поточной ячейки может использоваться автоматическое устройство для обработки жидкостей. По завершении загрузки образца в поточную ячейку пустая пробирка для библиотеки устанавливается в положение № 8 картриджа кластера, поточная ячейка помещается на прибор и начинается запуск секвенирования.

После инициирования запуска выполняется серия этапов, общих для обоих рабочих процессов. К этим этапам относятся нанесение кондиционирующей смеси на кластеризованную поточную ячейку и дополнительные этапы химической реакции для подготовки кластеров к секвенированию путем синтеза. Смесь для кондиционирования подготавливается в процессе кластеризации с использованием реагентов из кассеты для кластеризации и смешивается в пустой пробирке с библиотекой, вставленной при настройке прогона. Кондиционирующая смесь помогает повысить эффективность кластеризации на приборе NovaSeq 6000.

Документ № 100000019358, версия 18

## Настройка рабочего процесса NovaSeq Xp

- В основном меню выберите пункт Settings (Настройки).
   Откроется вкладка Mode Selection (Выбор режима) экрана Settings (Настройки).
- 2. Выберите вкладку Workflow Selection (Выбор рабочего процесса).
- 3. Чтобы активировать рабочий процесс NovaSeq XP, выберите **Enable Workflow Selection** (Активировать выбор рабочего процесса).
- 4. **[Дополнительно]** Чтобы установить NovaSeq Хр как рабочий процесс, используемый по умолчанию, выберите **NovaSeq Хр**.
- 5. Нажмите Save (Сохранить).

## Настройка параметров облачного хранения

Используйте следующие инструкции, чтобы настроить параметры подключения к облаку по умолчанию. Во время настройки прогона можно отключить параметры облака для текущего прогона или изменить настройки мониторинга и хранения данных. Для подключения к платформа BaseSpace Sequence Hub или Illumina Connected Analytics требуется доступ к интернету.

- В основном меню выберите пункт Settings (Настройки).
   Откроется вкладка Mode Selection (Выбор режима) экрана Settings (Настройки).
- 2. Установите флажок Illumina Cloud Options (Параметры облачного хранения).
- 3. Для параметра Configuration (Конфигурация) выберите один из следующих вариантов:
  - Run Monitoring and Storage (Мониторинг запуска и хранение данных запуска) отправляет данные прогона в выбранное облачное хранилище для удалённого мониторинга ианализа данных. В этом варианте в ходе запуска необходимо выгрузить протокол анализа.
  - Run Monitoring Only (Только отслеживание цикла) отправка файлов InterOp, журнала и других файлов цикла не-CBCL в хаб секвенирования платформа BaseSpace Sequence Hub для дистанционного мониторинга циклов.
- В раскрывающемся меню Hosting Location (Место расположения серверов) выберите EU (Frankfurt) (ЕС (Франкфурт)) или USA (N. Virginia) (США (С. Вирджиния)).
   Эта настройка определяет, куда будут выгружаться данные.
- 5. Если у вас есть подписка Enterprise на платформа BaseSpace Sequence Hub или Illumina Connected Analytics, выполните следующие действия.
  - a. Установите флажок Private Domain (Частный домен).
  - b. Введите доменное имя (URL), которым вы пользуетесь для единого входа в систему в платформа BaseSpace Sequence Hub или Illumina Connected Analytics.
- 6. Нажмите **Save** (Сохранить).

#### Название протокола анализа

При использовании NVCS v1.3.1 или более ранней версии лист образцов, используемый для прогонов и загружаемый в платформа BaseSpace Sequence Hub, должен иметь название SampleSheet.csv (с учетом регистра). Если лист образцов назван неверно, а функция Мониторинг и хранение прогона включена, платформа BaseSpace Sequence Hub помечает прогон как требующий внимания. Чтобы поставить такой прогон в очередь для генерации файлов FASTQ, выберите **More** > **Fix Sample Sheet and Requeue** (Дополнительно → Исправить лист образцов и повторно поставить в очередь), затем введите корректный файл листа образцов. Пока не будет протокола анализа, данные секвенирования нельзя будет преобразовать в файлы FASTQ.

При использовании NVCS v1.4 или более поздней версии ограничений по названиям протокола анализа нет.

При использовании программного обеспечения bcl2fastq2 Conversion Software v2.19 или более поздней версии для получения файлов FASTQ локально можно воспользоваться параметром командной строки --sample-sheet и указать любой файл CSV в любом местонахождении. В командной строке можно указывать файл с любым именем.

## Настройка обновлений программного обеспечения

По умолчанию функция автоматической проверки обновлений программного обеспечения включена. Пользователь может включить или выключить автоматическую проверку обновлений в меню Settings (Настройки).

- 1. В основном меню выберите пункт Settings (Настройки).
- 2. Выберите Software Update (Обновление программного обеспечения).
- 3. Установите флажок **If enabled, the instrument will display a notification when a Software Updates is available** (Если функция включена, прибор отобразит оповещение при появлении обновлений программного обеспечения).
- 4. Нажмите Save (Сохранить).

# Рабочий процесс Standard: подготовка расходных материалов

## Рекомендованные стандарты

- Убедитесь в наличии всего необходимого оборудования и расходных материалов. Обращайтесь к разделу *Расходные материалы и дополнительное оборудование, приобретаемые пользователем* на странице 23.
- Всегда проверяйте бирку во время приготовления расходных материалов, чтобы убедиться в том, что компоненты совместимы друг с другом. Не смешивайте и не сочетайте компоненты SP, S1, S2 и S4.
- Не смешивайте версии наборов реагентов.
  - Картриджи SBS и CPE версии v1.0 следует использовать только совместно друг с другом.
  - Картриджи SBS и CPE версии v1.5 следует использовать только совместно друг с другом.
- При извлечении картриджа SBS из упаковки внимательно осмотрите его на наличие трещин.
- Выполняйте инструкции в указанном порядке, используя указанные значения объемов, концентраций, температур и продолжительностей.
- Если в инструкции не указан определенный момент остановки, незамедлительно переходите к следующим этапам.

## Размораживание картриджей SBS и кластерных картриджей

- 1. Если выполняется запуск секвенирования, убедитесь, что обе стороны прибора будут доступны, когда завершится размораживание.
- 2. Достаньте картриджи SBS и картриджи кластеризации из морозильной камеры с температурой хранения от -25 °C до -15 °C.

 Поместите каждый картридж в проволочную сетку для размораживания. Сетки поставляются с прибором, они предотвращают опрокидывание картриджей в водяной бане.

Рисунок 12. Картриджи в проволочных сетках для размораживания



- 4. Размораживайте на водяной бане при комнатной температуре (19–25 °C). Погрузите их примерно до половины.
- 5. Продолжительность размораживания определяйте по следующей таблице.
  - Использование горячей воды (с температурой выше указанной) для размораживания реагентов может привести к ухудшению качества данных или сбою при проведении цикла.

Картридж	Продолжительность размораживания
Картридж SBS SP, S1 и S2	4 часа
Картридж кластера SP, S1 и S2	До 2 часов
Картридж SBS S4	4 часа
Картридж кластера S4	До 4 часов

- 6. Тщательно протрите основания картриджей бумажными полотенцами. Удалите всю влагу из промежутков между лунками.
- 7. Осмотрите на наличие воды уплотнения из фольги. При наличии в них воды промокните их насухо безворсовой тканью.
- 8. Осмотрите нижнюю сторону каждого картриджа и удостоверьтесь, что там нет льда это будет означать, что все реагенты полностью оттаяли.
- 9. Переверните каждый картридж 10 раз для перемешивания реагентов.
- 10. Осторожно постучите дном каждого картриджа по рабочему столу, чтобы выпустить и разбить воздушные пузырьки.

11. Если реагенты не были загружены в прибор в течение 4 часов, поместите их на хранение при температуре от 2 °C до 8 °C (на срок до 24 часов) либо верните в морозильную камеру с температурой от -25 °C до -15 °C. После оттаивания допускается не более одной повторной заморозки.

## Опорожнение бутылей для использованных реагентов

Воспользуйтесь следующими инструкциями для опорожнения использованных бутылей с реагентами после *каждого* сеанса секвенирования. Также должна быть установлена большая бутыль.

- Этот набор реагентов содержит потенциально опасные химические вещества. При их вдыхании, проглатывании, попадании на кожу или в глаза существует опасность причинения вреда здоровью. Вентиляция должна подходить для работы с опасными материалами, которые содержатся в реагентах. Используйте соответствующие риску средства индивидуальной защиты, в том числе защитные очки, перчатки и лабораторный халат. С использованными реагентами следует обращаться как с химическими отходами и удалять их в отходы в соответствии с действующими региональными, государственными и местными законами и нормативными актами. Более подробная информация о защите окружающей среды, охране здоровья и технике безопасности приведена в паспортах безопасности на веб-сайте support.illumina.com/sds.html.
- 1. Извлеките и опорожните малую бутыль для использованных реагентов, как указано ниже.
  - а. Поднимите рычаг и извлеките малую бутыль для использованных реагентов из углубления. Возьмите бутыль за боковые стороны.
  - b. Снимите винтовой колпачок с держателя колпачка, расположенного в передней части бутыли.
  - с. Закройте горлышко бутыли крышкой, чтобы предотвратить проливание.
  - d. Не допускайте перемешивания содержимого бутыли с содержимым других бутылей, утилизируйте его в соответствии со стандартами, действующими в вашем регионе.
  - е. Вновь установите бутыль без колпачка в углубление и опустите рычаг. Установите крышку обратно на держатель.
- 2. Извлеките и опорожните большую бутыль для использованных реагентов, как указано ниже.
  - a. При помощи верхнего рычага извлеките большую бутыль для использованных реагентов, расположенную слева в ящике для буферных растворов.
  - b. Снимите винтовой колпачок с держателя колпачка, расположенного в передней части бутыли.
  - с. Закройте горлышко бутыли крышкой, чтобы предотвратить проливание.

- d. Утилизируйте содержимое в соответствиисо стандартами, применимыми в вашем регионе. При опорожнении бутыли держитесь за обе ее ручки.
- e. Верните бутыль без колпачка в ящик для буферных растворов. Установите крышку обратно на держатель.

Рисунок 13. Возврат пустой бутыли



- 3. Наденьте новую пару неопудренных перчаток.
- 4. Закройте ящик для буферных растворов и закройте дверцы отсека для жидкостей.
  - Если не выполнить опорожнение бутылей для использованных реагентов, цикл может быть прерван и может произойти переполнение, приводящее к повреждению прибора и создающее угрозу безопасности.

## Подготовка поточной ячейки

- 1. Извлеките упаковку с новой поточной ячейкой из места хранения с температурой от 2 до 8 °C.
- 2. Отложите запаянный пакет с поточной ячейкой при комнатной температуре на 10–15 минут. Используйте поточную ячейку в течение 12 часов после ее изъятия из упаковки.

## Объединение и денатурирование библиотек для секвенирования

Концентрация при загрузке может колебаться в зависимости от методик подготовки библиотеки, количественного определения и нормализации. Инструкции см. в разделе «Генератор протокола денатурации и разбавления». Как только объединенная библиотека будет готова, перейдите к разделу *Подготовка картриджей SBS и картриджей кластеров* на странице 44.

Оранить пробирку для библиотеки следует только в случае крайней необходимости. Долгосрочное хранение при температуре от –25 до –15 °С может стать причиной увеличения дубликатов и уменьшения выхода.

### Подготовка картриджей SBS и картриджей кластеров

- 1. Осмотрите нижнюю сторону каждого картриджа и удостоверьтесь, что там нет льда это будет означать, что все реагенты полностью оттаяли.
- 2. Переверните каждый картридж 10 раз для перемешивания реагентов.
- 3. Осторожно постучите дном каждого картриджа по рабочему столу, чтобы выпустить и разбить воздушные пузырьки.

### Подготовка пользовательских праймеров

Если для вашей библиотеки требуются специальные праймеры, подготовьте их согласно инструкциям в *Руководство по применению праймеров серии NovaSeq (документ № 100000022266)*.

## Загрузка пробирки для библиотеки

- 1. Не встряхивая библиотеку в нижней части, вставьте пробирку для библиотеки, содержащую денатурированный и разведенный пул библиотек, без колпачка в положение Library Tube (Пробирка для библиотеки) № 8 картриджа кластера.
- 2. Вставьте пробирку с библиотекой в гнездо №8 картриджа кластеризации.

Рисунок 14. Пробирка для библиотеки без колпачка загружена в положение № 8



## Рабочий процесс NovaSeq Xp: Подготовка расходных материалов

## Краткий обзор рабочего процесса NovaSeq Xp

Перед началом подготовки образцов или расходных материалов убедитесь, что версия NVCS соответствует минимальным системным требованиям, приведенным в следующей таблице.

Таблица 11 Минимальные требования к программному обеспечению

Поточная ячейка	Минимально необходимая версия программного обеспечения для комплекта реагентов v1.0	Минимально необходимая версия программного обеспечения для комплекта реагентов v1.5
SP	1,6	1,7
S1	1.3.1	1,7
S1 S2	1.3.1 Bce	1,7

NVCS поддерживает ступенчатое начало новых запусков. См. разделы Поэтапная инициация запусков на странице 69.

Убедитесь, что были выполнены все этапы рабочего процесса NextSeq Хр в указанном порядке.

- 🚺 🛛 Этапы 1–4 могут выполняться параллельно и должны быть завершены перед переходом к этапу 5.
- 1. Разморозьте картридж SBS и картридж кластера.
- 2. Опорожнение бутылей для использованных реагентов
- 3. Отложите запечатанную упаковку с поточной ячейкой на 10–15 минут, чтобы поточная ячейка нагрелась до комнатной температуры. Используйте поточную ячейку в течение 12 часов после ее изъятия из упаковки.
- 4. Нормализуйте и объедините библиотеки в пул, при необходимости добавьте контроль PhiX в соответствии с соответствующим протоколом для ваших библиотек в инструменте Denature and Dilute Protocol Generator.



Выполните этапы 5–11 в указанном порядке.

- 5. Разморозьте реагенты ExAmp.
- 6. Приготовьте свежеразведенный раствор NaOH в соответствии с инструкциями Denature and Dilute Protocol Generator.
- 7. Денатурируйте и нейтрализуйте пул библиотек в соответствии с этим же протоколом.
- 8. Подготовьте поточную ячейку и док-станцию.
- 9. Подготовьте мастер-микс ExAmp.
- 10. Загрузите смесь реагентов ExAmp и библиотеки в поточную ячейку.
- 11. Загрузите пустую пробирку для библиотеки в положение № 8 картриджа кластера.

## Методы

- Убедитесь в наличии всего необходимого оборудования и расходных материалов. Обращайтесь к разделу *Расходные материалы и дополнительное оборудование, приобретаемые пользователем* на странице 23.
- Убедитесь, что прибор включен и имеет достаточно пространства в хранилище данных для запуска. См. раздел *Управление процессом* на странице 12.
- Убедитесь, что автоматическая промывка после прогона завершена с обеих сторон прибора до начала этапа «*Разморозить реагенты ExAmp»* в разделе *Краткий обзор рабочего процесса NovaSeq Xp* на странице 45
- Всегда проверяйте бирку во время приготовления расходных материалов, чтобы убедиться в том, что компоненты совместимы друг с другом. Не смешивайте компоненты SP, S1, S2 и S4 или компоненты для двух дорожек и четырех дорожек на одной стороне прибора.
- Не смешивайте версии наборов реагентов.
  - Картриджи SBS и CPE версии v1.0 следует использовать только совместно друг с другом.
  - Картриджи SBS и CPE версии v1.5 следует использовать только совместно друг с другом.
- При извлечении картриджа SBS из упаковки внимательно осмотрите его на наличие трещин.
- Выполняйте инструкции в указанном порядке, используя указанные значения объемов, температур и продолжительностей.
- Когда реагенты ExAmp не используются для активного смешивания, держите все реагенты и библиотеки на льду.
- Если в инструкции не указан определенный момент остановки, незамедлительно переходите к следующим этапам.
- Чтобы успешно начать секвенирование для поточной ячейки с двумя дорожками, обе дорожки должны быть заполнены. Чтобы успешно начать секвенирование для поточной ячейки с четырьмя дорожками, одна дорожка может быть частично заполнена или пуста.

- Наиболее частые причины отклонений в результатах при ручном смешивании реагентов ExAmp — неточная дозировка компонентов ExAmp и недостаточное перемешивание. Перемешивание должно быть тщательным.
- **і** Начинайте запуск секвенирования незамедлительно после загрузки библиотек в поточную ячейку, предпочтительно в течение 30 минут.

## Размораживание картриджей SBS и кластерных картриджей

- 1. Если выполняется запуск секвенирования, убедитесь, что обе стороны прибора будут доступны, когда завершится размораживание.
- 2. Достаньте картриджи SBS и картриджи кластеризации из морозильной камеры с температурой хранения от -25 °C до -15 °C.
- Поместите каждый картридж в проволочную сетку для размораживания. Сетки поставляются с прибором, они предотвращают опрокидывание картриджей в водяной бане.

Рисунок 15. Картриджи в проволочных сетках для размораживания



- 4. Размораживайте на водяной бане при комнатной температуре (19–25 °C). Погрузите их примерно до половины.
- 5. Продолжительность размораживания определяйте по следующей таблице.
  - Использование горячей воды (с температурой выше указанной) для размораживания реагентов может привести к ухудшению качества данных или сбою при проведении цикла.

Картридж	Продолжительность размораживания
Картридж SBS SP, S1 и S2	4 часа
Картридж кластера SP, S1 и S2	До 2 часов
Картридж SBS S4	4 часа
Картридж кластера S4	До 4 часов

- 6. Тщательно протрите основания картриджей бумажными полотенцами. Удалите всю влагу из промежутков между лунками.
- 7. Осмотрите на наличие воды уплотнения из фольги. При наличии в них воды промокните их насухо безворсовой тканью.
- 8. Осмотрите нижнюю сторону каждого картриджа и удостоверьтесь, что там нет льда это будет означать, что все реагенты полностью оттаяли.
- 9. Переверните каждый картридж 10 раз для перемешивания реагентов.
- 10. Осторожно постучите дном каждого картриджа по рабочему столу, чтобы выпустить и разбить воздушные пузырьки.
- 11. Если реагенты не были загружены в прибор в течение 4 часов, поместите их на хранение при температуре от 2 °C до 8 °C (на срок до 24 часов) либо верните в морозильную камеру с температурой от -25 °C до -15 °C. После оттаивания допускается не более одной повторной заморозки.

## Опорожнение бутылей для использованных реагентов

Воспользуйтесь следующими инструкциями для опорожнения использованных бутылей с реагентами после *каждого* сеанса секвенирования. Также должна быть установлена большая бутыль.

- Этот набор реагентов содержит потенциально опасные химические вещества. При их вдыхании, проглатывании, попадании на кожу или в глаза существует опасность причинения вреда здоровью. Вентиляция должна подходить для работы с опасными материалами, которые содержатся в реагентах. Используйте соответствующие риску средства индивидуальной защиты, в том числе защитные очки, перчатки и лабораторный халат. С использованными реагентами следует обращаться как с химическими отходами и удалять их в отходы в соответствии с действующими региональными, государственными и местными законами и нормативными актами. Более подробная информация о защите окружающей среды, охране здоровья и технике безопасности приведена в паспортах безопасности на веб-сайте support.illumina.com/sds.html.
- 1. Извлеките и опорожните малую бутыль для использованных реагентов, как указано ниже.
  - а. Поднимите рычаг и извлеките малую бутыль для использованных реагентов из углубления. Возьмите бутыль за боковые стороны.
  - b. Снимите винтовой колпачок с держателя колпачка, расположенного в передней части бутыли.
  - с. Закройте горлышко бутыли крышкой, чтобы предотвратить проливание.
  - d. Не допускайте перемешивания содержимого бутыли с содержимым других бутылей, утилизируйте его в соответствии со стандартами, действующими в вашем регионе.
  - е. Вновь установите бутыль без колпачка в углубление и опустите рычаг. Установите крышку обратно на держатель.
- 2. Извлеките и опорожните большую бутыль для использованных реагентов, как указано ниже.
  - a. При помощи верхнего рычага извлеките большую бутыль для использованных реагентов, расположенную слева в ящике для буферных растворов.
  - b. Снимите винтовой колпачок с держателя колпачка, расположенного в передней части бутыли.
  - с. Закройте горлышко бутыли крышкой, чтобы предотвратить проливание.
  - d. Утилизируйте содержимое в соответствиисо стандартами, применимыми в вашем регионе. При опорожнении бутыли держитесь за обе ее ручки.
  - e. Верните бутыль без колпачка в ящик для буферных растворов. Установите крышку обратно на держатель.

Рисунок 16. Возврат пустой бутыли



- 3. Наденьте новую пару неопудренных перчаток.
- 4. Закройте ящик для буферных растворов и закройте дверцы отсека для жидкостей.
  - Если не выполнить опорожнение бутылей для использованных реагентов, цикл может быть прерван и может произойти переполнение, приводящее к повреждению прибора и создающее угрозу безопасности.

## Подготовка поточной ячейки и док-станции

- 1. Извлеките упаковку с новой поточной ячейкой из места хранения с температурой от 2 до 8 °C.
- Отложите запаянный пакет с поточной ячейкой при комнатной температуре на 10–15 минут. Используйте поточную ячейку в течение 12 часов после ее изъятия из упаковки.
- 3. Поместите док-станцию для поточной ячейки на плоскую поверхность.
- 4. Осмотрите док-станцию и удостоверьтесь в том, что на ней нет частиц.

## Дайте реагентам ExAmp оттаять.

- 1. Достаньте по одной пробирке с DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 и DPX3 из морозильной камеры с температурой хранения от –25 до –15 °C.
- 2. Размораживайте при комнатной температуре в течение 10 минут.
- 3. Поместите на лед.
- Если необходимо повторно заморозить нераскрытые реагенты ExAmp, сделайте это сразу после оттаивания. Реагенты ExAmp допускается замораживать повторно только один раз.
   Оставшиеся реагенты нельзя замораживать повторно или объединять.

## Проверка вакуумного давления поточной ячейки

Проверьте вакуум в лунке поточной ячейки следующим образом.

- 1. В главном меню выберите Tools (Инструменты).
- 2. Выберите Flow Cell Vacuum (Вакуум поточной ячейки).
- 3. Выберите соответствующую сторону (А, В или обе), на которую будет загружена лунка поточной ячейки.
- 4. Нажмите **Ореп** (Открыть).
  - При первом открытии инструмента проверки вакуума отображается состояние Fail для обеих сторон (А и В). Это нормально, если лунка не загружена или была загружена до запуска инструмента проверки.
- 5. Достаньте новую лунку из хранения при температуре от 2 °C до 8 °C и разморозьте при комнатной температуре в течение 10–15 минут.
- 6. Извлеките поточную кювету из упаковки, как указано ниже.
  - a. Наденьте новую пару неопудренных перчаток во избежание загрязнения стеклянной поверхности поточных кювет.
  - b. Положив упаковку на плоскую поверхность, вскройте фольгу со стороны углового выступа.
  - с. Снимите прозрачный пластиковый фиксатор с поточной ячейки.
  - d. Извлеките поточную ячейку из упаковки. Возьмите поточную ячейку за боковые стороны, чтобы не касаться стекла или нижних прокладок.
  - Если на любой из стеклянных поверхностей видны посторонние частицы, протрите эту поверхность безворсовой спиртовой салфеткой и высушите низковорсной лабораторной салфеткой.
  - f. Удалите в отходы упаковку соответствующим образом.
  - Небольшое количество царапин или других незначительных косметических дефектов на поточной ячейке является нормальным явлением и не должно сказываться на качестве данных и выходе. Illumina рекомендует использовать эти поточные ячейки в обычном порядке.
- Выровняйте поточную кювету по четырем поднятым зажимам и поместите ее на площадку поточной кюветы.



Рисунок 17. Загружаемые поточные ячейки выравнивают по зажимам

8. Нажмите **Close** (Закрыть).

Дверца поточной ячейки закрывается, после чего система проверяет RFID-метку и вакуумное давление. На экране отображаются следующие данные: дескриптор лунки, идентификатор лунки и состояние вакуума.

 Если состояние вакуума отображается как Pass (в порядке), нажмите Open, чтобы открыть дверцу и перейти к этапу Загрузка поточной ячейки на док-станцию на странице 53 (Подготовка и установка лунки на док-станцию).

Если состояние вакуума отображается как Fail (ошибка):

- а. нажмите **Open**, чтобы открыть дверцу и устранить проблему.
- b. Извлеките поточную ячейку с площадки. Возьмите поточную ячейку за боковые стороны, чтобы не касаться стекла или нижних прокладок.
- Убедитесь, что как лунка, так и посадочная площадка для лунки не содержат посторонних частиц. При необходимости очистите соответствующую поверхность безворсовой салфеткой, смоченной спиртом, и вытрите низковорсовой лабораторной бумагой.
- d. Затем повторно установите лунку, совместив ее с четырьмя приподнятыми зажимами, и аккуратно поместите на посадочную площадку.
- е. Нажмите Close (Закрыть), чтобы закрыть дверцу отсека для поточной ячейки.
- f. Если вакуумное давление в лунке продолжает оставаться недостаточным, обратитесь в службу технической поддержки Illumina.

## Объединение, денатурирование и загрузка библиотек для секвенирования

Концентрация при загрузке может колебаться в зависимости от методик подготовки библиотеки, количественного определения и нормализации. Инструкции см. в разделе «Генератор протокола денатурации и разбавления». Как только объединенная библиотека будет готова, перейдите к разделу *Загрузка поточной ячейки на док-станцию* на странице 53.

Документ № 100000019358, версия 18

## Загрузка поточной ячейки на док-станцию

- 1. Извлеките поточную ячейку из упаковки. Возьмите поточную ячейку за боковые стороны, чтобы не касаться стекла или нижних прокладок.
- 2. Если на любой из стеклянных поверхностей видны посторонние частицы, протрите эту поверхность безворсовой спиртовой салфеткой и высушите низковорсной лабораторной салфеткой.
- 3. Удалите в отходы упаковку соответствующим образом.
  - Небольшое количество царапин или других незначительных косметических дефектов на поточной ячейке является нормальным явлением и не должно сказываться на качестве данных и выходе. Компания Illumina рекомендует использовать эти поточные ячейки в обычном порядке.
- 4. Поверните поточную ячейку так, чтобы верхняя поверхность была направлена вниз.
- 5. Поместите выходной конец поточной ячейки под фиксатор и установите ее в док-станцию. См. раздел «*Поточная ячейка* на странице 18 и *Док-станция для поточной ячейки NovaSeq Xp* на странице 22.

Рисунок 18. Размещение поточной ячейки



 Загрузите коллектор NovaSeq Хр на входной конец поточной ячейки так, чтобы лунки были обращены вверх. Проверьте, чтобы опоры коллектора NovaSeq Хр были надежно установлено в вырезы в док-станции.

Рисунок 19. Размещение коллектора NovaSeq Xp



- А. Лунки коллектора NovaSeq Хр повернуты вверх.
- В. Опоры коллектора NovaSeq Хр размещены в вырезах станции.
- 7. Закройте зажим для взаимной фиксации поточной ячейки и коллектора NovaSeq Xp, накройте прокладки.
- 8. Утилизируйте коллектор NovaSeq XP после загрузки пулов библиотек в поточную ячейку. Коллектор NovaSeq XP подходит только для одноразового применения.

## Подготовьте мастер-микс ExAmp

При подготовке мастер-микса ExAmp используйте пробирку для микроцентрифуги, объем которой как минимум в два раза превышает требуемый объем.

- Для поточной ячейки с двумя дорожками используйте пробирку объемом 0,5 мл или 1,7 мл.
- Для поточной ячейки с четырьмя дорожками используйте пробирку объемом 1,7 мл.

Наиболее частыми причинами вариаций в результатах при ручном смешивании реагентов ExAmp являются неточное дозирование объемов и недостаточное перемешивание. Перемешивание должно быть тщательным.

- i Расходные материалы DPX1 и DPX2 могут быть промаркированы как JPX1 и JPX2. Оба варианта совместимы с наборами реагентов версий v1.0 и v1.5.
- 1. Переверните или немного взболтайте, чтобы смешать DPX1/JPX1 и DPX2/JPX2.
- 2. Немного взболтайте DPX3, чтобы перемешать.

Реагенты ExAmp могли разделиться при хранении. Реагенты являются вязкими, особенно DPX2/JPX2 и DPX3. Реагент DPX3 плохо смешивается при переворачивании из-за высокой вязкости.

- 3. Центрифугируйте DPX1/JPX1, DPX2/JPX2 и DPX3, но недолго.
- 4. Слейте в подходящую пробирку для микроцентрифуги следующие объемы веществ в указанном порядке.

Порядок добавления	Реагент*	Объем для поточной ячейки с двумя дорожками (SP/S1/S2) (мкл)	Объем для поточной ячейки с четырьмя дорожками (S4) (мкл)
1	DPX1/JPX1	126	315
2	DPX2/JPX2	18	45
3	DPX3	66	165

\* Колпачки пробирок с реагентами DPX/JPX могут быть окрашены в разные цвета: красный — для DPX1/JPX1, желтый — для DPX2/JPX2, синий — для DPX3. При замене колпачков пробирок обязательно сохраняйте цветовое кодирование.

В результате добавления этих объемов получится 210 мкл мастер-микса ExAmp для режимов SP, S1 или S2 или 525 мкл мастер-микса для режима S4. Этих объемов достаточно для применимого режима. Дополнительный объем добавлен, чтобы учесть ошибки при пипетировании во время загрузки библиотек в поточную ячейку.

- 5. Пипетируйте и распределяйте компоненты медленно, чтобы избежать образования пузырьков, и убедитесь, что из наконечника вышел весь объем.
- 6. Взбалтывайте в течение 20–30 секунд или до тщательного перемешивания компонентов.

**і** Мастер-микс ЕхАтр стабилен при встряхивании.

Смесь может показаться мутной, но это нормально.

- 7. Центрифугируйте при 280 × g в течение 1 минуты.
- Чтобы обеспечивать наибольшую эффективность секвенирования, незамедлительно перейдите к следующему этапу. Идеальные условия хранения (при необходимости) — до 1 часа на льду. В случае хранения при комнатной температуре используйте смесь в течение 30 минут.

## Загрузка библиотек в поточную ячейку

Для получения наилучших результатов выполните следующие действия:

- Храните загруженную поточную ячейку при комнатной температуре. Не замораживайте и не кладите ее на лед.
- Длительная инкубация может снижать процент кластеров, проходящих через фильтр (% PF).
- Начните запуск в течение 30 минут после загрузки пулов библиотек в поточную ячейку.
- Наилучшие результаты достигаются при немедленном использовании смеси ExAmp и библиотеки.
- Добавьте мастер-смесь ExAmp в каждый денатурированный пул библиотеки согласно приведенным указаниям, затем перемешайте на вихревом миксере в течение 20–30 секунд.. При использовании стрипов с пробирками используйте пипетку для получения однородной смеси.

Режим	Денатурированный пул библиотек (мкл)	Мастер-микс ExAmp (мкл)	Полученный объем (мкл)
SP/S1	27	63	90
S2	33	77	110
S4	45	105	150

- 2. Центрифугируйте при 280 × g в течение 1 минуты.
- 3. С помощью пипетки на 200 мкл внесите соответствующий объём смеси ExAmp и библиотеки в каждую лунку коллектора NovaSeq XP.
  - Во избежание образования пузырьков загружайте образцы медленно.

Документ № 100000019358, версия 18

- Убедитесь, что добавили смесь пула библиотек в лунку, которая соответствует целевой дорожке.
- При пипетировании избегайте контакта с фильтром в нижней части лунки.
- Нет необходимости ждать, пока дорожка заполнится полностью, перед тем как добавлять смесь в оставшиеся лунки коллектора.

Режим	Смесь библиотек/ExAmp на лунку (мкл)
SP/S1	80
S2	95
S4	130

Нумерация лунок коллектора NovaSeq XP соответствует номеру дорожки поточной ячейки. Когда поточная ячейка находится в перевернутом положении, нумерация дорожек идет в обратном порядке.

2 1	4321

Рисунок 20. Нумерация дорожек в перевернутом положении

- После добавления смеси реагентов ExAmp и библиотеки во все лунки коллектора подождите приблизительно 2 минуты, чтобы смесь достигла противоположного конца каждой дорожки. Небольшой пузырек воздуха на выходном конце — абсолютно нормальное явление. Небольшой объем смеси может оставаться в лунках коллектора после заполнения дорожки.
  - Не наклоняйте поточную ячейку, пытаясь определить, заполнены ли дорожки или присутствуют ли пузырьки. При наклоне смесь реагентов ExAmp и библиотеки может вытекать из поточной ячейки. Если дорожка не заполняется полностью, не пытайтесь исправить ситуацию. Выход данных от частично заполненной дорожки может быть ниже. Не пытайтесь извлечь образец из поточной ячейки.
  - **і** Не наклоняйте поточную ячейку при транспортировке.

## Подготовка картриджей SBS и картриджей кластеров

- 1. Осмотрите нижнюю сторону каждого картриджа и удостоверьтесь, что там нет льда это будет означать, что все реагенты полностью оттаяли.
- 2. Переверните каждый картридж 10 раз для перемешивания реагентов.

Документ № 100000019358, версия 18

3. Осторожно постучите дном каждого картриджа по рабочему столу, чтобы выпустить и разбить воздушные пузырьки.

#### Подготовка пользовательских праймеров

Если для вашей библиотеки требуются специальные праймеры, подготовьте их согласно инструкциям в *Руководство по применению праймеров серии NovaSeq (документ № 100000022266)*.

## Загрузка пустой пробирки для библиотеки

- 1. Снимите крышку с пробирки для библиотеки, входящей в комплект с Комплект реагентов NovaSeq 6000.
- 2. Вставьте пустую открытую пробирку для библиотеки в позицию №8 Library Tube картриджа кластеризации.

Пустая пробирка обязательна для считывания RFID-метки и выполнения смешивания реагентов на приборе. Штрих-код пробирки не проверяется на соответствие штрих-коду, указанному в LIMS-файле. Проверяется RFID, чтобы убедиться, что пробирка ранее не использовалась.

Рисунок 21. Пробирка для библиотеки без колпачка загружена в положение № 8



## Секвенирование

## Настройка запуска секвенирования

Компания Illumina рекомендует оставаться в системе, пока работает NVCS и выполняется прогон секвенирования.

1. Удалите все предметы с поверхности инструмента.

Все поверхности во время запуска секвенирования должны оставаться чистыми; не опирайтесь на прибор. Давление на дверцу поточной ячейки может привести к ее открытию, что станет причиной остановки запуска. Остановленные запуски нельзя возобновить.



🚺 🛛 Поддерживается ступенчатое начало новых запусков. Таймер ступенчатого начала показывает, когда может начаться ступенчатый запуск. Дополнительную информацию см. в разделе Поэтапная инициация запусков на странице 69.

- 2. На главной странице выберите Sequence (Последовательность), а затем выберите запуск с одной поточной ячейкой или двумя.
  - А + В запуск с двумя поточными ячейками.
  - А запуск с одной поточной ячейкой на стороне А.
  - В запуск с одной поточной ячейкой на стороне В.

Программное обеспечение инициирует серию страниц настройки запуска, начиная со страницы Load (Загрузка).

3. Нажмите ОК, чтобы подтвердить, что вы ознакомились со всеми предупреждениями и открыть дверцу отсека для поточной ячейки.

## Загрузите в прибор поточную ячейку.

- 1. Если поточная ячейка от предыдущего прогона все еще установлена, извлеките ее.
- Если на платформе для поточной ячейки видны частицы загрязнений, очистите всю платформу, включая жидкостный интерфейс и стеклянную поверхность оптической мишени юстировки, с помощью спиртовой салфетки. Вытрите насухо безворсовой тканью.



#### Рисунок 22. Площадка поточной кюветы

- 3. [Стандартный рабочий процесс]Извлеките поточную ячейку из упаковки следующим образом.
  - a. Наденьте новую пару неопудренных перчаток, чтобы не загрязнить стеклянную поверхность поточной ячейки.
  - b. Положив упаковку на плоскую поверхность, вскройте фольгу со стороны углового выступа.
  - с. Снимите прозрачный пластиковый фиксатор с поточной ячейки.
  - d. Извлеките поточную ячейку из упаковки. Возьмите поточную ячейку за боковые стороны, чтобы не касаться стекла или нижних прокладок.
  - Если на любой из стеклянных поверхностей видны посторонние частицы, протрите эту поверхность безворсовой спиртовой салфеткой и высушите низковорсной лабораторной салфеткой.
  - f. Удалите в отходы упаковку соответствующим образом.
  - Небольшое количество царапин или других незначительных косметических дефектов на поточной ячейке является нормальным явлением и не должно сказываться на качестве данных и выходе. Компания Illumina рекомендует использовать эти поточные ячейки в обычном порядке.
- 4. [Рабочий процесс NovaSeq XP] Извлеките поточную ячейку из док-станции следующим образом.
  - а. Откройте зажим, который крепит поточную ячейку и коллектор.
  - b. Не допуская затекания жидкости на поточную ячейку, аккуратно снимите и утилизируйте коллектор.
  - с. Если жидкость затечет на поточную ячейку, очистите ее безворсовой спиртовой салфеткой и сухой безворсовой лабораторной салфеткой.
  - d. Обхватите поточную ячейку по бокам, чтобы вынуть ее из док-станции. Удерживайте поточную ячейку в ровному положении.
  - e. При наличии остаточного материала на прокладках промокните досуха четыре прокладки поточной ячейки безворсовой тканью. Не дотрагивайтесь до прокладок.

f. Поверните поточную ячейку по длинной оси так, чтобы верхняя поверхность была направлена вверх.

Рисунок 23. Поверните поточную ячейку вокруг длинной оси



- g. Перед возвратом док-станции на хранение осмотрите ее и удостоверьтесь в том, что на ней нет частиц.
- 5. Выровняйте поточную кювету по четырем поднятым зажимам и поместите ее на площадку поточной кюветы.

Рисунок 24. Загружаемые поточные ячейки выравнивают по зажимам



 Нажмите Close Flow Cell Door (Закрыть дверцу отсека поточной ячейки).
 Дверца поточной кюветы закроется, датчики и RFID будут проверены, на экране появится идентификационный номер поточной кюветы.

### Загрузка картриджей SBS и кластерных картриджей

- [] Для рабочего процесса NovaSeq Хр перед загрузкой картриджа кластера убедитесь, что в картридж загружена пустая пробирка для библиотек без колпачка.
- 1. Откройте створчатую дверку отделения для жидкостей, а затем откройте дверцу охладителя реагентов.
- 2. Извлеките использованный картридж SBS и кластерный картридж. У использованных картриджей закрывающая фольга проколота.

- 3. Утилизируйте неизрасходованное содержимое в соответствии с применимыми стандартами. Инструкции по безопасной утилизации позиции №30 картриджа кластеризации см. в разделе *Отсоединение положения № 30* на странице 70.
- 4. Загрузите подготовленные картриджи в ящик холодильника для реагентов так, чтобы этикетки с надписью **Insert** (Вставить) были направлены к задней части прибора.
  - Поместите картридж SBS (серая бирка) в левое положение.
  - Поместите картридж кластера (оранжевая бирка), содержащий пробирку для библиотеки без колпачка, в правое положение.



Рисунок 25. Загруженные картриджи с реагентами

5. Вставьте ящик в холодильник, а затем закройте дверцу холодильника для реагентов. Проверяются датчики и считывающие устройства RFID. На экране будут отображены идентификационные номера пробирки для библиотеки и двух картриджей.

## Загрузка картриджа с буфером

- 1. Потяните за металлическую ручку, чтобы открыть ящик для буферных растворов.
- 2. Выньте использованные картриджи с буфером с правой стороны ящика для буферных растворов.

У использованных картриджей с буфером закрывающая фольга проколота.

 Поместите новый картридж с буфером в буферный ящик так, чтобы этикетка Illumina была обращена к передней стороне ящика. Выставьте картридж по приподнятым направляющим на полу ящика и по его сторонам.

При правильной загрузке картриджи с буфером располагаются равномерно и ящик можно закрыть.



Рисунок 26. Загрузка картриджа с буфером

- 4. Если обе бутыли для использованных реагентов были опорожнены, установите флажок, подтверждающий, что обе бутыли пусты.
  - Если не выполнить опорожнение бутылей для использованных реагентов, цикл может быть прерван и может произойти переполнение, приводящее к повреждению прибора и создающее угрозу безопасности.
- 5. Выберите доступную кнопку.
  - Log In (Вход в систему) открывает экран входа в систему для авторизации в вашей облачной учетной записи. Для платформа BaseSpace Sequence Hub, перейдите к *Вход в систему платформа BaseSpace Sequence Hub* на странице 62. Для Illumina Connected Analytics, перейдите к *Вход в систему Illumina Connected Analytics* на странице 63.
  - Run Setup (Настройка прогона) пропускает платформа BaseSpace Sequence Hub и открывает экран настройки прогона для ввода параметров. Выполняет переход к *Ввод параметров запуска* на странице 63.

Доступность кнопки зависит от того, настроена ли система для платформа BaseSpace Sequence Hub.

### Вход в систему платформа BaseSpace Sequence Hub

При открытии NVCS вашей рабочей группой по умолчанию будет выбрана рабочая группа из платформа BaseSpace Sequence Hub. Если вы не указали группу по умолчанию, будет выбрана ваша личная рабочая группа.

1. [Необязательно] Обновите настройки платформа BaseSpace Sequence Hub для текущего прогона:

- Чтобы отключить платформа BaseSpace Sequence Hub, снимите флажок **BaseSpace Sequence Hub**, затем выберите **Run Setup** (Настройка прогона), чтобы продолжить без входа в систему.
- Чтобы отправить данные прогона в платформа BaseSpace Sequence Hub для удаленного мониторинга и анализа, выберите **Run Monitoring and Storage** (Мониторинг и хранение прогона). Для этого требуется таблица образцов.
- Чтобы отправить файлы InterOp, runinfo.xml и runParameters.xml в платформа BaseSpace Sequence Hub для удаленного мониторинга, выберите **Run Monitoring Only** (Только мониторинг прогона).
- 2. Введите имя пользователя и пароль от платформа BaseSpace Sequence Hub, затем нажмите Sign In (Вход).
- Если будет предложено, выберите рабочую группу, чтобы загрузить в нее данные запуска, а затем выберите Run Setup (Настройка запуска).
   Предложение будет показано только тем пользователям, которые относятся к нескольким рабочим группам.

## Вход в систему Illumina Connected Analytics

- 1. [Необязательно] Обновите следующие настройки Illumina Connected Analytics (ICA) для текущего прогона:
  - Чтобы отключить ICA, снимите флажок Illumina Cloud Options (Параметры облака), затем выберите **Run Setup** (Настройка прогона), чтобы продолжить без входа в систему.
  - Чтобы отправить данные прогона в ICA для удаленного мониторинга и анализа, выберите **Run Monitoring and Storage** (Мониторинг и хранение прогона). Для этого требуется таблица образцов.
  - Чтобы отправить файлы InterOp, runinfo.xml и runParameters.xml в ICA для удаленного мониторинга, выберите **Run Monitoring Only** (Только мониторинг прогона).
- 2. Введите имя пользователя и пароль от ICA, затем нажмите Sign In (Вход).
- 3. Когда появится запрос, выберите рабочую группу и проект, в которые необходимо загрузить данные прогона, затем нажмите **Run Setup** (Настройка прогона).

## Ввод параметров запуска

- 1. Если рабочий процесс NovaSeq XP включен, выберите тип рабочего процесса.
  - Перед тем как выбрать рабочий процесс **NovaSeq Xp**, убедитесь, что загружена пустая пробирка для библиотеки.
  - Перед тем как выбрать рабочий процесс **NovaSeq Standard**, убедитесь, что в пробирку для библиотеки загружен образец.

- В поле Run Name (Название запуска) введите желаемое название, позволяющее идентифицировать текущий запуск.
   Название запуска может содержать буквенно-цифровые символы, дефисы и подчеркивания.
- Введите число циклов для каждого считывания и длины индекса в запуске секвенирования. Максимальное количество циклов индексирования не установлено, но сумма циклов считывания и индексирования должна быть меньше общего числа циклов, предусмотренных для набора реагентов.
  - **Read 1** (Считывание 1) введите значение до 151 циклов для наборов версии v1.0 на 300 циклов. Введите значение до 251 циклов для наборов v1.0 на 500 циклов.
  - Index 1 (Индекс 1) введите количество циклов для праймера Index 1 (i7).
  - Index 2 (Индекс 2) введите количество циклов для праймера Index 2 (Индекс 2) (i5 primer).
  - Read 2 (Считывание 2) введите значение до 151 циклов для наборов версии v1.0 на 300 циклов или до 251 циклов для наборов версии v1.0 на 500 циклов.. Введите значение до 251 циклов для наборов v1.0 на 500 циклов. Это значение, как правило, аналогично значению параметра Read 1 (Прочтение 1).
- Количество циклов, анализируемых при Read 1 (Прочтение 1) и Read 2 (Прочтение 2), на один цикл меньше, чем введенное значение. Например, для выполнения 150-циклового запуска секвенирования методом парных прочтений (запуск 2 × 150 п. о.) введите в поля Read 1 (Прочтение 1) и Read 2 (Прочтение 2) значение 151.

Для наборов версии v1.0 сумма четырёх введённых значений может превышать указанное количество циклов в выбранном наборе реагентов: до 23 циклов — для прогонов с парным концом; до 30 циклов — для однонаправленных прогонов.

Для наборов версии v1.5 сумма может превышать количество циклов на: до 38 циклов — как для прогонов с парным концом, так и для однонаправленных прогонов.

Набор S4 на 35 циклов содержит всего 72 цикла секвенирования. Сумма четырех значений может превышать указанное число максимум на 37 циклов. Значения по умолчанию для считываний можно редактировать, и общее количество циклов может быть распределено между четырьмя этапами считывания, например: 36, 10, 10, 0.

4. Нажмите **Advanced Options** (Дополнительные возможности), чтобы применить настройки для текущего запуска.

Эти настройки являются дополнительными, если не указано иное.

• Custom Primers (Пользовательские праймеры v1.0) — установите флажок Custom Primers (Пользовательские праймеры) v1.0, а затем выберите соответствующие параметры. Для библиотек Подготовка ДНК без ПЦР методом тегментации (Illumina) при использовании

наборов версии v1.0 требуется специальный праймер для считывания Read 1 (VP10). Подробные сведения см. в разделе *Руководство по применению праймеров серии NovaSeq (документ № 100000022266)*.

- Read 1 (Считывание 1) использовать пользовательский праймер для Read 1 (Считывание 1).
- **Read 2** (Считывание 2) использовать пользовательский праймер для Read 2 (Считывание 2).
- Custom Index (Пользовательский индекс) использовать пользовательский праймер для Index 1 (Индексирование 1).
- v1.5 Custom Primers (Пользовательские праймеры v1.5) установите флажок v1.5 Custom Primers (Пользовательские праймеры v1.5), а затем выберите соответствующие флажки. Библиотекам Подготовка ДНК без ПЦР методом тегментации (Illumina) не требуются пользовательские праймеры при использовании наборов v1.5. Подробные сведения см. в разделе Руководство по применению праймеров серии NovaSeq (документ № 100000022266).
  - Read 1 (Считывание 1) использовать пользовательский праймер для Read 1 (Считывание 1).
  - **Read 2** (Считывание 2) использовать пользовательский праймер для Read 2 (Считывание 2).
  - **Custom Index** (Пользовательский индекс) использовать пользовательский праймер для считываний Index 1 (Индекс 1) и Index 2 (Индекс 2).
- Output Folder (Папка выходных данных) выберите Browse (Обзор) для изменения местоположения папки выходных данных для текущего запуска. Папка вывода обязательна, если прогон не подключен к платформа BaseSpace Sequence Hub или Illumina Connected Analytics для хранения данных.
- Samplesheet (Таблица образцов) выберите Browse (Обзор), чтобы загрузить файл с таблицей образцов. Он обязателен при использовании систем мониторинга и хранения прогона (например, через платформа BaseSpace Sequence Hub или Illumina Connected Analytics), либо может быть любым другим CSV-файлом. Этот файл копируется в папку вывода и не влияет на параметры прогона. Проверьте, чтобы загруженный протокол анализа имел нужный формат (направление адаптера Index Read 2 [Считывание индекса 2]), соответствующий рабочим процессам v1.0 и v1.5, в которых используются различные стратегии. Рабочий процесс по прямой цепи выполняется с использованием наборов реагентов v1.0. Рабочий процесс с использованием обратной комплементарной цепи выполняется с использованием наборов реагентов v1.5.
- Custom Recipe (Пользовательский набор параметров) выберите Custom Recipe (Пользовательский набор параметров), затем Browse (Обзор), чтобы использовать XML-

файл пользовательского протокола для данного прогона. Пользовательские наборы, созданные для v1.0, несовместимы с v1.5. Для получения подробной информации свяжитесь со службой технической поддержки компании Illumina.



5. Нажмите **Review** (Просмотр).

Программное обеспечение подтверждает, что указанные параметры соответствуют набору параметров.

#### Подтверждение параметров запуска

- 1. Подтвердите параметры запуска, отображаемые на экране Review (Проверка).
- 2. **[Дополнительно.]** Выберите вариант **Back** (Назад) и вернитесь к экрану Run Setup (Настройка запуска), чтобы отредактировать параметры запуска.
- Выберите Start Run (Начать запуск).
   Автоматически начнется серия проверок перед запуском.

### Обзор проверок перед запуском

Подождите около 5 минут до завершения проверок перед запуском.
 После успешного завершения проверок запуск начинается автоматически.

- 2. Если в ходе проверки перед запуском происходит сбой из-за ошибок датчика например, не обнаружена поточная ячейка, необходимо выйти и перезапустить рабочий процесс.
- Если в ходе проверки перед запуском сбой происходит по другой причине, выберите Retry (Повтор) для повторного проведения проверки, закончившейся сбоем, или Retry All (Повторить все), чтобы повторно выполнить все проверки.
   Ошибки требуют устранения, прежде чем запуск может быть начат. Обратитесь к разделу *Ошибки проверок перед запуском* на странице 81 для получения информации по устранению неполадок.
- 4. Нажмите на значок Error (Ошибка), чтобы увидеть подробные сведения об ошибке.

Чтобы избежать переполнения жесткого диска, не копируйте данные на диск С после начала прогона.

- 5. Если сбоем окончилась проверка соосности, выполните устранение ошибки по следующей схеме.
  - а. Выберите опцию Reload (Повторная загрузка), а затем OK для возврата на экран загрузки.
  - b. Уберите все посторонние предметы с верхней крышки прибора и нажмите **ОК**. Открывается дверца поточной ячейки.
  - с. Загрузите поточную ячейку и затем выберите Run Setup (Настройка запуска).
  - d. Переходите по всем экранам, чтобы повторно прочесть каждую метку RFID, и вернитесь на экран проверок перед запуском.
  - е. Повторите проверку.
## Отслеживание хода выполнения прогона

 Позволяет отслеживать выполнение запуска, интенсивность и баллы оценки качества по мере того, как числовые показатели запуска отображаются на экране. Дополнительную информацию о числовых параметрах прогона см. в разделе *Real-Time Analysis* на странице 86.



Рисунок 27. Выполнение и числовые показатели запуска секвенирования

- A. **Time to completion** (Время до завершения) показывает дату и время завершения запуска (гггг-мм-дд чч:мм).
- В. **Run progress** (Ход выполнения) текущий этап запуска. Изменение длины индикатора выполнения не пропорционально скорости выполнения каждого этапа.
- С. Q-scores (Q-оценки) распределение оценок качества (Q-scores).
- D. Intensity (Интенсивность) служит для отображения значения интенсивностей кластера 90-го процентиля для каждой плитки. Цвета графика указывают на данные из зеленого или красного каналов.
- E. Clusters passing filter (%) (Кластеры, проходящие фильтр [%]) показывает долю кластеров, проходящих фильтр.
- F. Projected Total Yield (Предполагаемый общий выход) (Гб) прогнозируемое количество данных, которое будет получено в ходе прогона на поточной ячейке (FC). Если выбраны параметры на каждую дорожку (Н), отображаемые числа являются текущим выходом на дорожку и будут обновляться для каждого цикла в течение всего запуска.
- G. **Q30** доля распознавания оснований с оценкой Q-score ≥ 30.
- H. Per lane breakdown (Разбивка по дорожкам) если выбрать значения в элементах E, F и G, будут отображаться данные из этих полей с разбивкой по дорожкам.
- ECЛИ ВО ВРЕМЯ РАБОТЫ NVCS НАЧНЕТСЯ ОТКЛЮЧЕНИЕ ИЛИ ПЕРЕЗАПУСК СИСТЕМЫ, ПОДТВЕРДИТЬ это действие перед тем, как отключение или перезапуск смогут произойти.

#### Числовые показатели прогона

Программное обеспечение отображает численные показатели, создаваемые для каждого запуска. Числовые показатели отображаются в виде графических изображений множеств, графиков и таблиц, основанных на данных, созданных RTA3 и записанных в файлы InterOp.

Кластеризация занимает примерно 2 часа, после чего начинается секвенирование с первого цикла. Количественные показатели обновляются по мере продвижения секвенирования. После 26-го цикла отображаются значения кластеров, прошедших фильтр, выход и оценки качества. До 26-го цикла значения не отображаются и считаются неприменимыми.

## Статус обработки

Экран Process Management (Управление процессом) содержит списки статусов по каждому запуску. В основном меню выберите **Process Management** (Управление процессом).

Для каждого названия запуска на экране управления процессом выведен статус следующих процессов.

- Run status (Статус цикла) на основании обработки файлов CBCL.
- Network (Сетевая копия) на основании передачи файлов с помощью Universal Copy Service.
- BaseSpace (Загрузка в BaseSpace) на основании загрузок файлов в платформа BaseSpace Sequence Hub, если применимо.

Когда процесс завершается, он обозначается зеленой отметкой. Дополнительную информацию см. в разделе *Управление процессом* на странице 12.

## Поэтапная инициация запусков

Ступенчатое начало — это возможность настроить и начать запуск на стороне прибора, находящейся в холостом режиме, пока на другой стороне выполняется запуск. Ступенчатые запуски настраиваются на конкретное время в течение запуска, на что указывают следующие состояния таймера.

- Run Start: Available (Начало запуска: доступно) ступенчатое начало доступно. Дата и время указывают, когда ступенчатое начало будет доступно. Выберите Sequence (Секвенирование), чтобы запустить новый прогон со ступенчатым началом после завершения текущего цикла.
- **Run Start: Unavailable** (Начало запуска: недоступно) ступенчатое начало недоступно. Дата и время показывают, когда ступенчатое начало будет доступно на другой стороне прибора.
- Waiting... (Ожидание...) если попытаться начать запуск, кода ступенчатое начало недоступно, состояние изменится на Waiting (Ожидание), а дата и время покажут приблизительный момент, когда прибор будет готов к новому запуску. Прибор приступит к настройке запуска, когда ступенчатое начало будет доступно.

При настройке пользователем нового запуска программное обеспечение автоматически приостанавливает и вновь запускает запуск на соседней поточной ячейке, если требуется. Во время паузы система переводится в безопасное состояние.

## Процедура

- 1. На главном экране выберите **Sequence** (Секвенирование), затем выберите **A** или **B**. Выбранная сторона в настоящий момент должна находиться в холостом режиме.
- Дождитесь приостановки запуска на соседней поточной ячейке. Чтобы отменить новый запуск и предотвратить паузы, выберите Cancel (Отмена).
   Если соседним циклом выполняется генерация кластера, ресинтез парных концевых фрагментов, визуализация или промывка, программное обеспечение завершает текущий этап до паузы.
- Когда соседний запуск приостанавливается и дверца поточной ячейки открывается, настройте новый запуск.
   После запуска нового прогона приостановленный прогон автоматически возобновляется.

## Удаление запуска

После завершения передачи данных, используя Process Management (Управление процессом), можно удалить текущий запуск, чтобы освободить память для последующего запуска. Удаление сеанса очищает СЕ и диск С без удаления системных файлов обслуживания, не затрагивая сеть и копию платформа BaseSpace Sequence Hub. Запуски выполняющегося секвенирования удалить нельзя.

- 1. В основном меню выберите Process Management (Управление процессом).
- [Дополнительно.] Убедитесь, что у каждого процесса в запуске отображается зеленая отметка, указывающая на завершение переноса данных.
   Вы можете удалить сеанс, передача которого в сеть или на платформа BaseSpace Sequence Hub еще не завершена, однако все данные сеанса будут утеряны.
- Выберите Delete Run (Удалить запуск), а затем выберите Yes (Да), чтобы подтвердить действие.
- 4. Нажмите **Done** (Готово).

## Отсоединение положения № 30

В положении № 30 картриджа кластера находится резервуар с формамидом. Он извлекается из использованного картриджа кластера и утилизируется отдельно.

- Этот набор реагентов содержит потенциально опасные химические вещества. При их вдыхании, проглатывании, попадании на кожу или в глаза существует опасность причинения вреда здоровью. Вентиляция должна подходить для работы с опасными материалами, которые содержатся в реагентах. Используйте соответствующие риску средства индивидуальной защиты, в том числе защитные очки, перчатки и лабораторный халат. С использованными реагентами следует обращаться как с химическими отходами и удалять их в отходы в соответствии с действующими региональными, государственными и местными законами и нормативными актами. Более подробная информация о защите окружающей среды, охране здоровья и технике безопасности приведена в паспортах безопасности на веб-сайте support.illumina.com/sds.html.
- 1. Надев перчатки, нажмите на белый пластиковый выступ с надписью **Detach after use** (Отсоединить после использования) и сдвиньте его вправо.
- Удерживая руку под резервуаром или положив его на поверхность, нажмите на прозрачный пластмассовый выступ по направлению к бирке Illumina, чтобы высвободить резервуар из кластерного картриджа.

Не складывайте картриджи кластеров друг на друга при хранении. При складывании друг на друга может произойти случайное отделение резервуара.

Рисунок 28. Съемное положение № 30



- А. Белый пластмассовый выступ для отсоединения.
- В. Прозрачный пластмассовый выступ для высвобождения.
- 3. Утилизируйте емкость в соответствии с применимыми стандартами.

## Автоматическая промывка после запуска

Когда секвенирование завершается, программное обеспечение инициирует автоматическую промывку после запуска, которая длится около 80 минут. Системный насос выкачивает раствор гипохлорита натрия 0,24 % (NaOCI) из положения № 17 и обеспечивает его разбавление до 0,12 %. Раствор 0,12 % NaOCI закачивается в положения реагента ExAmp и библиотеки, проходит через поточную кювету, а затем попадает в бутыли для использованных реагентов. В ходе промывки матрица удаляется из системы во избежание перекрестного загрязнения.

Когда промывка завершается, система переходит в безопасное состояние и кнопка Ноте (Исходное состояние) становится активной. Оставьте расходные материалы на месте до следующего запуска. После промывки сипперы остаются в картридже SBS и картриджах кластеров во избежание попадания воздуха в систему. Сипперные трубки в буферном картридже поднимаются настолько, чтобы можно было опорожнить бутыли для использованных реагентов.



🚺 🛛 Если во время автоматической промывки после запуска возникнет ошибка и промывка после запуска не будет завершена, необходимо выполнить профилактическую промывку.

# Техническое обслуживание

## Профилактическое техническое обслуживание

Illumina рекомендует запланировать ежегодное проведение профилактического технического обслуживания. Если у вас нет контракта на обслуживание, свяжитесь с территориальным специалистом по работе с клиентами или со службой технической поддержки Illumina и организуйте платный сеанс профилактического технического обслуживания.

## Выполнение промывки в рамках техобслуживания

Программное обеспечение предлагает провести промывку в рамках техобслуживания в следующих случаях:

- Если запуска на 4 дорожки с промывкой после запуска не было в течение 14 дней.
- если промывка в рамках техобслуживания не проводилась в течение последних 14 дней;
- если после запуска не была проведена промывка или если она была проведена с ошибкой.

Промывка в рамках техобслуживания проводится с промыванием системы растворами Tween 20 и NaOCI (приобретаются отдельно). Разбавленные вещества перекачиваются из промывочных картриджей через поточную ячейку, бутыли для использованных реагентов и каждый резервуар картриджа для промывки всей системы. Промывка длится примерно 80 минут.

Для выполнения профилактической промывки нужны картридж с буфером, картридж SBS, промывочный картридж кластера и четырехдорожечная промывная поточная ячейка, которая поставляется с прибором (или использованная четырехдорожечная поточная ячейка). Как и в случае с картриджами реагентов, промывочные картриджи имеют цветовую маркировку, предотвращающую ошибки при загрузке. Центральная лунка промывочного картриджа SBS предназначена для разбавленного раствора Tween 20. Разбавленный раствор NaOCI вносят в резервуар кластерного картриджа для промывки.

Если не выполнить опорожнение бутылей для использованных реагентов, промывка может быть прервана и может произойти переполнение, приводящее к повреждению прибора и создающее угрозу безопасности.



Рисунок 29. Промывочный картридж SBS (слева) и кластерный картридж для промывки (справа)

#### Подготовка промывочного раствора

- 1. Добавьте 400 мл ультрачистой воды в колбу для центрифугирования на 500 мл.
- Добавьте 0,2 мл 100% Tween 20, чтобы получить минимум 400 мл 0,05% промывочного раствора Tween 20.
   Использование свежеприготовленного раствора Tween 20 ограничивает попадание загрязняющих веществ в гидравлическую систему.
- 3. Переверните колбу, чтобы перемешать содержимое.
- 4. Снимите крышку с центральной лунки промывочного картриджа SBS.
- Влейте в центральную лунку промывочный раствор. Наполните до линии MIN FULL VOLUME, которая указывает минимально необходимый объем.
   Остальные резервуары остаются пустыми.

Рисунок 30. Центральная лунка заполнена до линии MIN FILL VOLUME



- 6. Смешайте следующие объемы в пробирке для центрифугирования объемом 30 мл для приготовления 20 мл 0,25 % реактивного NaOCI класса чистоты ч.д.а.:
  - NaOCl 5% ч.д.а. (1 мл)
  - Деионизированная вода (19 мл)

Документ № 100000019358, версия 18

Исключительно для использования в научно-исследовательских целях. Не предназначено для использования в диагностических процедурах.

- Используйте только NaOCI класса чистоты ч.д.а. Не используйте отбеливатели общего назначения, так как они могут содержать соединения аммиака, которые могут плохо пропускаться через фильтр.
- 7. Переверните колбу, чтобы перемешать содержимое.
- Добавьте 5 мл 0,25 % реактивного NaOCI класса чистоты ч.д.а. в картридж.
   Это место отмечено как Fill (Заполнено) и обведено оранжевым кругом. Все остальные резервуары остаются пустыми.

Рисунок 31.	Положение для 0,25 % NaOCI
-------------	----------------------------



#### Загрузка промывочной поточной ячейки

1. Удалите все предметы с поверхности инструмента.

Во время промывки в рамках техобслуживания поверхность оборудования должна быть чистой. Не опирайтесь на оборудование. Давление на дверцу поточной ячейки может привести к ее открытию, что станет причиной остановки промывки.

- 2. На главном экране нажмите **Wash** (Промывка), а затем укажите, какую сторону оборудования следует промыть:
  - А+В Промыть обе стороны одновременно.
  - А Промыть только сторону А.
  - В Промыть только сторону В.

Программа покажет несколько экранов процесса промывки.

- Профилактическую промывку для одной стороны можно начинать в том случае, если вторая сторона либо находится в холостом режиме, либо выполняет циклы считывания SBS. Время ступенчатого начала NVCS указывает, когда доступен запуск нового прогона или промывки. См. разделы Поэтапная инициация запусков на странице 69.
- 3. Нажмите **ОК**, чтобы подтвердить, что вы ознакомились со всеми предупреждениями и открыть дверцу отсека для поточной ячейки.
- 4. Если еще не установлена, загрузите промывочную поточную ячейку или использованную четырехдорожечную поточную ячейку.
- Нажмите Close Flow Cell Door (Закрыть дверцу отсека поточной ячейки).
   Дверца закроется, будет выполнена проверка датчиков и RFID, и на экране появится идентификационный номер поточной ячейки.

#### Загрузка промывочных картриджей

Промывочные картриджи необходимы для выполнения промывки в рамках технического обслуживания. Не используйте использованные картриджи SBS и картриджи кластеризации.

- 1. Откройте створчатую дверку отделения для жидкостей, а затем откройте дверцу охладителя реагентов.
- Извлеките использованный картридж SBS и картридж с реагентами для получения кластеров. Удалите в отходы неизрасходованное содержимое в соответствии с действующими локальными нормами.

Инструкции по безопасной утилизации позиции №30 картриджа кластеризации см. в разделе *Отсоединение положения № 30* на странице 70.

- 3. Загрузите промывочные картриджи в ящик холодильника для реагентов так, чтобы этикетки с надписью **Insert** (Вставить) были направлены к задней части прибора.
  - Поместите картридж SBS (серая бирка) в левое положение.
  - Поместите картридж кластера (оранжевая бирка) в правое положение.
- 4. Вставьте ящик в холодильник, а затем закройте дверцу холодильника для реагентов. Проверяются датчики, и RFID каждого из картриджей сканируется и отображается на экране.
- 5. Откройте ящик для буферных реагентов.
- 6. Если картридж с буфером пока не загружен, загрузите его.

#### Опорожнение бутылей для использованных реагентов

Воспользуйтесь следующими инструкциями для опорожнения использованных бутылей с реагентами после каждой промывки в рамках технического обслуживания. Даже если система сконфигурирована для вывода использованных реагентов наружу, использованные реагенты будут собираться в малой бутыли, а большая бутыль также должна быть установлена.

- Этот набор реагентов содержит потенциально опасные химические вещества. При их 0 вдыхании, проглатывании, попадании на кожу или в глаза существует опасность причинения вреда здоровью. Вентиляция должна подходить для работы с опасными материалами, которые содержатся в реагентах. Используйте соответствующие риску средства индивидуальной защиты, в том числе защитные очки, перчатки и лабораторный халат. С использованными реагентами следует обращаться как с химическими отходами и удалять их в отходы в соответствии с действующими региональными, государственными и местными законами и нормативными актами. Более подробная информация о защите окружающей среды, охране здоровья и технике безопасности приведена в паспортах безопасности на веб-сайте support.illumina.com/sds.html.
- 1. Извлеките маленький использованный бутыль с реагентом и утилизируйте его содержимое в соответствии с применимыми нормативами вашего региона. Содержимое этого резервуара нельзя смешивать с содержимым других бутылей.
- 2. Вставьте малый контейнер для использованного реагента в углубление.
- 3. Снимите большую бутыль с использованными реагентами и утилизируйте содержимое согласно применимым стандартам.
- 4. Вставьте большую бутыль для использованных реагентов в ящик для буферных растворов.
- 5. Наденьте новую пару неопудренных перчаток.
- 6. Закройте ящик для буферных растворов и закройте дверцы отсека для жидкостей. Проверяются датчики и считывающие устройства RFID. На экране появятся идентификационные номера каждого из компонентов для промывки.

#### Запуск промывки

1. Флажком отметьте, что обе бутыли для использованных реагентов пусты, а затем нажмите Start Wash (Начать промывку).

Будет запущен процесс промывки; на экране отобразится предполагаемое время завершения процесса.



🛕 🛛 Если не выполнить опорожнение бутылей для использованных реагентов, промывка может быть прервана и может произойти переполнение, приводящее к повреждению прибора и создающее угрозу безопасности.

- 2. По завершении промывки нажмите Ноте (Главный экран).
- Оставьте расходные материалы на месте до следующего запуска.
   Во избежание попадания воздуха в систему сипперы остаются в картридже SBS и кластерном картридже. Из картриджа с буфером элементы системы подачи подняты, чтобы пользователь мог опорожнить бутыли для использованных реагентов.

## Обновление программного обеспечения

Обновления программного обеспечения доступны для NVCS версии v1.4 и выше. Обновления можно загрузить и установить с помощью NVCS. По умолчанию функция автоматической проверки обновлений программного обеспечения включена. Автоматическое обновление можно включить или выключить через меню Settings (Настройки).



Для проверки и загрузки обновлений программного обеспечения NovaSeq 6000 должен быть подключен к интернету.

Автоматическая проверка обновлений выполняется каждые 24 часа. При обнаружении доступного обновления в основном меню отображается уведомление. Уведомление об обновлении выводится всем пользователям, но загружать и устанавливать обновления может только администратор.

Для рабочего процесса NovaSeq Xp перед началом подготовки образцов или расходных материалов убедитесь, что версия NVCS соответствует минимальным требованиям к программному обеспечению, приведенным в следующей таблице.

Таблица 12	Минимальные	требования	к программному
обеспечени	ю		

Поточная ячейка	Минимально необходимая версия программного обеспечения для комплекта реагентов v1.0	Минимально необходимая версия программного обеспечения для комплекта реагентов v1.5
SP	1,6	1,7
S1	1.3.1	1,7
S2	Bce	1,7
S4	1.2.0	1,7

Документ № 100000019358, версия 18

Исключительно для использования в научно-исследовательских целях. Не предназначено для использования в диагностических процедурах.

Если выполняются процессы запуска секвенирования, промывки, настройки запуска или передачи файла в папку выходных данных или BaseSpace Sequence Hub, выполнить обновление программного обеспечения невозможно. Если выполняется рабочий процесс NovaSeq Xp, то перед обновлением программного обеспечения подождите, пока в поточную ячейку не загрузятся библиотеки и не завершится секвенирование.

Чтобы вручную проверить наличие обновлений либо загрузить и установить обновление, выполните следующие действия.

- В главном меню выберите Software Update (Обновление программного обеспечения). Появится экран Software Update (Обновление программного обеспечения), где будут указаны примечания к выпуску имеющегося обновления. Если функция автоматической проверки обновления программного обеспечения не включена, пользователь может проверять наличие обновлений вручную или включить функцию автоматической проверки.
- 2. Чтобы загрузить и установить обновление, установите флажок, подтверждающий получение сведений о том, что продолжительность загрузки и установки составляет около 30 минут.
- Выберите Download and Install (Загрузить и установить).
   После завершения загрузки NVCS автоматически закрывается, и запускается установщик.
   При выполнении установки следуйте инструкциям установщика.
   Если во время загрузки или установки произошли ошибки, обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.

# Поиск и устранение неисправностей

## Ресурсы поиска и устранения неисправностей

По техническим вопросам посетите Система секвенирования NovaSeq 6000 страницу поддержки на веб-сайте компании Illumina. Страницы поддержки обеспечивают доступ к документации, загрузкам и часто задаваемым вопросам. Чтобы получать бюллетени поддержки, зарегистрируйте учетную запись в службе Mylllumina.

В случае проблем с качеством прогона или его выполнением обратитесь в отдел технической поддержки компании Illumina. Чтобы облегчить поиск и устранение неисправностей, не забудьте предоставить отделу технической поддержки компании платформа BaseSpace Sequence Hub ссылку на сводку по запуску в Illumina.

## Файлы поиска и устранения неисправностей

Основной файл	Папка	Описание
Файл с информацией о запуске (RunInfo.xml)	Корневой каталог	Содержит настройки запуска: • число циклов в запуске секвенирования; • число считываний в запуске секвенирования; • индексировано ли считывание; • число полос и областей сканирования в поточной ячейке.
Файл параметров запуска (RunParameters.xml)	Корневой каталог	Содержит название запуска и информацию о параметрах и компонентах запуска, включая следующую информацию о RFID: серийные номера, номера партий, срок годности и номера по каталогу.
Файлы InterOp (*.bin)	InterOp	Двоичные файлы отчета, используемые программным обеспечением Sequencing Analysis Viewer. Файлы InterOp обновляются по мере выполнения прогона.

Документ № 100000019358, версия 18

Исключительно для использования в научно-исследовательских целях. Не предназначено для использования в диагностических процедурах.

Основной файл	Папка	Описание
Файлы журнала	Logs (Журналы)	Файлы журнала фиксируют каждыйшаг, выполняемый прибором на каждом цикле, включая информацию о задействованных реагентах, а также содержат сведения о версиях программного и встроенного обеспечения, использованных в ходе прогона. В файле [InstrumentName]_ CurrentHardware.csv содержится список серийных номеров компонентов прибора.

## Ошибки проверок перед запуском

Если во время проверок перед запуском возникает ошибка, примите следующие меры для ее устранения. Если настроен запуск с двойной поточной ячейкой и одна сторона не отработала, можно отменить работу со сбойной стороной ячейки и продолжить запуск для той стороны, которая отработала нормально.

Если система не проходит проверку перед циклом, то RFID поточной кюветы, реагентов и буферных растворов не блокируются, то есть их можно использовать как расходные материалы в следующем цикле. Когда цикл начинается, сипперные трубки пробивают крышки из фольги на картриджах реагентов, после чего все RFID блокируются.

Проверка системы	Причина сбоя	Рекомендованное действие
Загрузка поточной ячейки	Поточная ячейка не фиксируется, или система не может считать RFID-метку.	Осмотрите и очистите поточную ячейку и площадку для ячейки, затем повторно загрузите поточную ячейку.
Датчики	Дверь отсека открыта, расходный материал загружен ненадлежащим образом, или по меньшей мере один датчик не работает.	Выберите <b>Retry</b> (Повтор) и выполните действия согласно возникающим на экране подсказкам, чтобы устранить ошибку.
Дисковое пространство	Дискового пространства не хватает, поскольку в указанном месте расположения папки выходных данных память переполнена.	Воспользуйтесь экраном управления процессом для очистки дискового пространства в указанном месте расположения папки выходных данных.

Проверка системы	Причина сбоя	Рекомендованное действие
Связь в системе	Соединение с RTA3, системой подачи жидкостей или другим	Выберите <b>Retry</b> (Повтор) и выполните действия согласно
	компонентом было прервано.	возникающим на экране подсказкам, чтобы устранить ошибку.
Выравнивание	Положение поточных ячеек не позволяет их визуализировать.	Следуйте экранным подсказкам и перезагрузите поточную ячейку.

## Поддон для сбора утечек

Поддон для сбора утечек встроен в основание прибора. Он предназначен для сбора подтекающих реагентов или охлаждающего агента, а также собирает переливающуюся жидкость из бутылей использованных реагентов. При нормальных условиях в поддоне для сбора утечек не должно быть жидкостей. Утечка означает, что прибор работает с нарушениями, а перелив означает, что бутыли с использованными реагентами опорожняются нерегулярно.

Во время проверки перед циклом датчики определяют, есть ли жидкость в поддоне для сбора утечек.

- Если поддон содержит жидкость, но не заполнен полностью, это не помешает приступить к выполнению цикла, но вам нужно будет обязательно связаться с отделом технической поддержки компании Illumina.
- Если поддон заполнен, запуск прогона невозможен нужно обязательно связаться с отделом технической поддержки компании Illumina.
- Бутыли для использованных реагентов нужно опорожнять при каждом цикле. Прогон останавливается, если хотя бы одна из бутылей для использованных реагентов заполнена. Переполнение любой из бутылей для использованных реагентов может повредить прибор, потребовать выезда представителя компании Illumina и представляет угрозу безопасности.

# Управление процессом: поиск и устранение неисправностей

В следующей таблице приведены варианты поиска и устранения неисправностей в том случае, если на странице экрана Process Management (Управление процессом) появляется значок N/A (Не применимо).

• Значок N/A (Не применимо) отображается в столбце BaseSpace, и запуск сконфигурирован таким образом, чтобы файлы выгружались в платформа BaseSpace Sequence Hub.

• Значок N/A (Не применимо) отображается в столбце Network (Сеть), и запуск сконфигурирован таким образом, чтобы файлы выгружались в папку выходных данных в сетевом расположении.

Статус запуска	Действие по устранению неисправности
Запуск выполняется	Закройте страницу Process Management (Управление процессом), подождите около 5 минут и снова откройте страницу.
Запуск не выполняется	Остановите прибор и перезапустите его, а затем снова откройте страницу Process Management (Управление процессом).

Если значок N/A (Не применимо) по-прежнему отображается после того, как вы выполнили все действия по устранению неисправности, обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.

## Неудача запуска до кластеризации

Если программное обеспечение завершает прогон с ошибкой до начала кластеризации, вы можете сохранить картриджи с реагентами, пробирку для библиотеки (включая образец), а также, при немедленном повторном использовании, поточную ячейку для нового прогона. Когда начинается кластеризация, шланги-пробойники прокалывают фольгированные пломбы, и реагенты переносятся в пробирку для библиотеки и поточную ячейку, поэтому расходные материалы и библиотеки не могут быть использованы повторно.

У вас есть два варианта настройки нового прогона с использованием картриджей с реагентами, пробирки для библиотеки и поточной ячейки, сохраненных после неудачного прогона:

- Настройка нового запуска немедленно настройка нового запуска в течение 4 часов после неудачного запуска. Картриджи с реагентами, пробирка и поточная ячейка остаются загруженными.
  - i Чтобы получить оптимальные результаты при рабочем процессе NovaSeq Xp, начните запуск как можно раньше.
- Настройка нового запуска позднее настройка нового запуска в течение трех недель после неудачного запуска. Картриджи реагентов и пробирку библиотеки выгружают из прибора и помещают на хранение. Сохраненные расходные материалы должны быть помечены с указанием даты и помещены на хранение в исходные условия.
  - Поточную ячейку повторно использовать нельзя. Ее необходимо утилизировать. Для замены поточной ячейки обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.

#### Настройка нового запуска немедленно

Если при неудавшемся запуске выполнялся рабочий процесс NovaSeq Xp, то, чтобы получить оптимальные результаты, начните запуск как можно раньше.

- 1. Если запуск дает сбой, а вторая сторона прибора находится в холостом режиме, перезагрузите прибор. В противном случае выберите **Ноте** (Исходное состояние).
- 2. Настройте новый запуск.
- 3. Не вынимайте текущую поточную ячейку.
- Откройте и закройте дверцу охладителя реагентов и выдвижной ящик для буфера, чтобы система NVCS повторно считала RFID-метки картриджей с реагентами.
   После неудачного запуска картриджи, пробирка для библиотеки и поточная ячейка могут оставаться в приборе до истечения 4 часов.
- 5. При необходимости опорожните бутыли для использованных реагентов и верните их в прибор.
- 6. Перейдите к настройке запуска.

#### Настройка нового прогона позднее

- 1. При сбое запуска выберите **Ноте** (Исходное состояние).
- 2. Чтобы извлечь расходные материалы из прибора, настройте новый запуск или профилактическую промывку.
- 3. При появлении сообщения извлеките и сохраните следующие расходные материалы.
  - Закройте пробирку для библиотеки и храните при температуре от –25 до –15 °С до трех недель.
  - Верните картридж SBS и кластерный картридж в морозильную камеру с температурой от –25 до –15 °C.
  - Верните картридж с буфером в место хранения с комнатной температурой, защищенное от действия света.

Если картриджи не проколоты, их можно повторно использовать для нового запуска.

 Выберите End (Конец), чтобы отменить запуск или профилактическую промывку, затем выберите Yes (Да) для подтверждения команды.
 Вместо отмены профилактической промывки можно дождаться ее завершения.

## Окончание запуска

Завершение прогона на системе NovaSeq 6000 является *окончательным*. Программное обеспечение не может возобновить запуск или сохранить данные секвенирования, невозможно будет также повторно использовать расходные материалы.

1. Выберите вариант **End** (Завершить запуск), а затем выберите **Yes** (Да), чтобы подтвердить команду.

Если запуск завершен после этапа Read 1 (Считывание 1), программное обеспечение начнет автоматическую промывку после запуска.

- 2. Если будет предложено, следует выбрать возможный вариант промывки.
  - End Run Without Wash (Завершить запуск без промывки) завершение запуска и инициирование профилактической промывки.
  - End Run and Wash (Завершить запуск и промыть) завершение запуска и выполнение автоматической промывки после запуска.
  - Cancel (Отмена) продолжение текущего запуска.

Если завершение запуска приходится на промежуток между окончанием кластеризации и завершением этапа Read 1 (Считывание 1), то программное обеспечение отображает допустимые варианты промывки. В иных случаях программное обеспечение начнет автоматическую промывку после запуска.

 При выборе варианта End Run Without Wash (Завершить запуск без промывки) выполните команды, предлагаемые программным обеспечением с целью настройки профилактической промывки.

## Выключение прибора

При останове прибора все программное обеспечение безопасным образом отключается, а питание прибора выключается. Полоса статуса из зеленой становится белой, указывая на то, что идет процесс останова.

При обычных условиях выполнять выключение прибора не требуется.

Каждый раз когда программное обеспечение дает сбой, следует выполнить полное выключение и включение прибора.

Если завершение работы или перезапуск инициируются во время работы NVCS, пользователь должен подтвердить это действие, прежде чем операция будет выполнена.

- 1. В основном меню выберите Shutdown Instrument (Остановить прибор).
- 2. После того как экран погаснет, переведите переключатель питания на задней стороне прибора в положение выключения.
- 3. Подождите как минимум 60 секунд, прежде чем снова включать прибор.
  - Запрещается перемещать прибор. Неправильное перемещение может повлиять на центровку оптической системы и нарушить целостность данных. Для получения помощи при перемещении оборудования свяжитесь с представителем Illumina.

# **Real-Time Analysis**

# Обзор программного обеспечения Real-Time Analysis

Система секвенирования NovaSeq 6000 запускает RTA3 и реализует программное обеспечение Real-Time Analysis на Compute Engine (CE) (на вычислительном модуле прибора). RTA3 извлекает значения интенсивности из изображений, полученных с камеры, выполняет определение последовательности нуклеотидов, присваивает показатели качества распознанным основаниям, проводит выравнивание по PhiX и создает отчеты в файлах InterOp для просмотра в программном обеспечении Sequencing Analysis Viewer.

С целью оптимизации времени обработки данных RTA3 сохраняет информацию в памяти. Если работа RTA3 прерывается, обработка не возобновляется и все данные запуска, обрабатываемые в памяти, теряются.

## Входные данные RTA3

RTA3 для обработки требуются изображения областей сканирования, содержащиеся в локальной системной памяти. RTA3 получает информацию о запуске и команды от NVCS.

## Выходные данные RTA3

RTA3 Изображения по каждому цветовому каналу переносятся в память для в виде областей сканирования. Из этих изображений средствами RTA3 создаются файлы распознанных оснований с присвоенными показателями качества и файлы фильтра. Все остальные выходные данные представляют собой вспомогательные файлы.

Тип файла	Описание
Файлы распознанных оснований	Каждая проанализированная область сканирования включается в файл объединенных распознанных оснований (*.cbcl). Области сканирования с одной дорожки и поверхности объединяются в один файл *.cbcl для каждой дорожки и поверхности.
Файлы фильтра	Для каждой области сканирования создается файл фильтра (*.filter), в котором указывается, проходит ли кластер через фильтры.
Файлы расположения кластеров	Файлы расположения кластеров (*.locs) содержат координаты X и Y каждого кластера в области сканирования. Файл расположения кластеров создается для каждого прогона.

Документ № 100000019358, версия 18

Исключительно для использования в научно-исследовательских целях. Не предназначено для использования в диагностических процедурах.

Выходные файлы используются для последующего анализа в платформа BaseSpace Sequence Hub. Кроме того, можно использовать программное обеспечение конвертации bcl2fastq для преобразования файлов в формат FASTQ и применения сторонних средств анализа. Для файлов NovaSeq необходимо программное обеспечение bcl2fastq2 Conversion Software v2.19 или более поздней версии. Последние по времени версии ПО bcl2fastq2 можно найти на странице скачивания bcl2fastq на веб-сайте Illumina.

RTA3 обеспечивает получение показателей качества цикла в реальном времени, которые хранятся как файлы InterOp — двоичные выходные файлы, содержащие параметрические сведения о плитке, цикле и уровне считывания. Просмотр числовых показателей, полученных в реальном времени, с помощью программы просмотра анализов секвенирования требует наличия файлов InterOp. Последние по времени версии программы просмотра анализов секвенирования можно найти на странице Sequencing Analysis Viewer — материалы для загрузки на веб-сайте Illumina.

#### Обработка ошибок

RTA3 создает лог-файлы и записывает их в папку Logs (Журналы). Ошибки записываются в текстовый файл в формате \*.log.

В конце обработки в окончательное место расположения выходных данных переносятся нижеследующие лог-файлы:

- info\_00000.log: содержит сводку важных событий, возникших в ходе запуска.
- error\_00000.log: содержит список ошибок, возникших в ходе запуска.
- warning\_00000.log: содержит список предупреждений, выданных в ходе запуска.

#### Области сканирования поточной кюветы

Области сканирования — это небольшие участки визуализации на поверхности поточной ячейки. Камера делает один снимок каждой полосы, а программное обеспечение разбивает ее на плитки для обработки в RTA3. Общее количество плиток зависит от числа дорожек, полос и поверхностей, которые визуализируются.

- Поточные ячейки SP содержат 312 плиток.
- Поточные ячейки S1 содержат 624 плитки.
- Поточные ячейки S2 содержат 1408 плиток.
- Поточные ячейки S4 содержат 3744 плитки.

Компонент поточной ячейки	SP	S1	S2	S4	Описание
Дорожки	2	2	2	4	Дорожка — это физический канал с портами входа и выхода.
Поверхности	1	2	2	2	Поточные ячейки S1, S2 и S4 визуализируются по двум поверхностям: верхней и нижней. Сначала выполняется визуализация верхней поверхности области сканирования. Поточная ячейка SP визуализируется только по нижней поверхности.
Число полос на дорожку	2	2	4	6	Полоса— это столбец в дорожке поточной ячейки, изображение которого захватывается камерой при получении одного снимка.
Количество областей сканирования на полосу	78	78	88	78	Область сканирования— это часть полосы, которая составляет визуализируемую область поточной ячейки.
Общее количество создаваемых областей сканирования	312	624	1408	3744	Общее количество областей сканирования равно произведению количества дорожек, количества поверхностей, количества полос и количества областей сканирования в полосе.

#### Таблица 13 Области сканирования поточной кюветы

#### Присвоение имен областям сканирования

Имя области сканирования представляет собой пятизначное число, обозначающее ее положение на поточной ячейке. Например, имя области сканирования

1\_1205 обозначает: дорожка 1, верхняя поверхность, полоса сканирования 2, область 5.

- Первая цифра представляет собой номер дорожки.
  - 1 или 2 для поточной ячейки SP, S1 или S2.
  - 1, 2, 3 или 4 для поточной ячейки S4.
- Вторая цифра обозначает поверхность: 1 верхняя, 2 нижняя.

Для поточной ячейки SP второй цифрой всегда является 2, так как эта ячейка имеет только нижнюю поверхность.

- Третья цифра обозначает номер полосы.
  - 1 или 2 для поточных ячеек SP или S1.
  - 1, 2, 3 или 4 для поточной ячейки S2.
  - 1, 2, 3, 4, 5 или 6 для поточной ячейки S4.
- Последние две цифры обозначают номер области сканирования. Нумерация начинается с 01 на выходном конце поточной ячейки и заканчивается 88 или 78 на входном конце.
  - От 01 до 78 для поточной ячейки SP, S1 или S4.
  - От 01 до 88 для поточной ячейки S2.

## Рабочий процесс Real-Time Analysis

Регистрация ↓	Регистрация расположения каждого кластера на структурированной поточной ячейке.
Определение интенсивности	Определение значения интенсивности для каждого кластера.
Коррекция фазирования ↓	Коррекция эффектов фазирования и префазирования.
Распознавание оснований ↓	Распознавание оснований в каждом кластере.
Оценка качества	Присвоение показателя качества каждому распознанному основанию.

#### Регистрация

Регистрация привязывает изображение к гексагональной схеме нанолунок на структурированной поточной ячейке. Ввиду упорядоченного характера расположения нанолунок координаты X и Y для каждого кластера в области сканирования заданы заранее. Положения кластеров записываются в файл расположения кластеров (s.locs) для каждого запуска.

В случае сбоя регистрации для любого изображения в цикле для этой области сканирования в данном цикле распознанные основания не генерируются. Чтобы определить, какие изображения не удалось зарегистрировать, воспользуйтесь программой просмотра анализов секвенирования Sequencing Analysis Viewer.

### Определение интенсивности

После регистрации функция определения интенсивности вычисляет значение интенсивности для каждой нанолунки на данном изображении. В случае сбоя регистрации интенсивность для данной области сканирования не определяется.

## Коррекция фазирования

Во время реакции секвенирования каждая цепочка ДНК в кластере удлиняется на одно основание за цикл. Фазирование и префазирование происходят, когда цепочка выбивается из фазы текущего цикла встраивания оснований.

- Фазирование происходит в случае недостающего основания.
- Префазирование происходит в случае присоединения лишнего основания.



Рисунок 32. Фазирование и префазирование

- А. Прочтение с недостающим основанием при фазировании
- В. Прочтение с лишним основанием при префазировании.

Программное обеспечение RTA3 позволяет исправлять эффекты фазирования и префазирования, что повышает качество данных на каждом отдельном цикле во время всего запуска.

## Распознавание оснований

В процессе определения последовательности нуклеотидов для каждого кластера данной области сканирования в конкретном цикле определяется основание (A, C, G или T). В системе Система секвенирования NovaSeq 6000 используется двухканальное секвенирование, при котором нужны только два изображения для кодирования всех четырех оснований ДНК: одно изображение из красного канала и одно из зеленого канала.

Нераспознанные основания обозначаются буквой N. Нераспознавание возможно, если кластер не проходит фильтр, при регистрации происходит сбой или кластер смещен с изображения.

Значения интенсивности для каждого кластера извлекаются из красного и зеленого изображений и сравниваются друг с другом, что позволяет получить четыре четко

отличающиеся популяции. Каждая популяция соответствует определенному основанию. Процесс определения последовательности нуклеотидов позволяет установить, к какой популяции принадлежит каждый кластер.



Рисунок 33. Визуализация значений интенсивности кластера

Таблица 14 Распознавание оснований при двухканальном секвенировании

Основание	Красный канал	Зеленый канал	Результат
А	1 (есть)	1 (есть)	Кластеры, дающие интенсивный сигнал и в красном, и в зеленом каналах.
С	1 (есть)	0 (нет)	Кластеры, дающие интенсивный сигнал только в красном канале.
G	0 (нет)	0 (нет)	Кластеры, не дающие интенсивного сигнала в известном положении.
Т	0 (нет)	1 (есть)	Кластеры, дающие интенсивный сигнал только в зеленом канале.

#### Кластеры, проходящие через фильтр

Во время запуска RTA3 отфильтровывает исходные данные, удаляя результаты прочтений, не соответствующих пороговому показателю качества данных. Перекрывающиеся кластеры и кластеры низкого качества удаляются.

При выполнении двухканального анализа для определения чистоты распознанного основания (измерения чистоты интенсивности) RTA3 использует систему на основе популяции кластеров. Кластеры проходят через фильтр (ПФ), если в первых 25 циклах не более одного основания оказывается распознано с чистотой ниже заданного порога. Выравнивание по PhiX выполняется во время цикла 26 для подгруппы областей сканирования тех кластеров, которые прошли через фильтр. Для кластеров, не прошедших через фильтр, распознавание оснований и выравнивание не выполняются.

## Показатели качества

Показатель качества (показатель Q) представляет собой оценку вероятности неверного распознавания основания. Чем выше показатель Q, тем выше качество распознавания основания и тем вероятнее получение правильного результата. После определения значения Q результаты регистрируются в файлах распознанных оснований (\*.cbcl).

Показатель качества — это лаконичное представление вероятности незначительных ошибок. Показатели качества имеют вид Q(X), где X — это значение показателя. В приведенной ниже таблице показана связь между показателем качества и вероятностью ошибки.

Показатель качества Q(X)	Вероятность ошибки
Q40	0,0001 (1 к 10 000)
Q30	0,001 (1 к 1000)
Q20	0,01 (1 к 100)
Q10	0,1 (1 к 10)

#### Оценка качества и подготовка отчета

При оценке качества вычисляется набор предикторов для каждого распознанного основания, а затем значения предикторов используются для определения показателя качества по таблице качества. Таблицы качества созданы для обеспечения оптимально точного прогноза качества для прогонов, выполняемых с использованием конкретной конфигурации платформы секвенирования и версии химической реакции.

[] Оценка качества основана на модифицированной версии алгоритма Phred.

RTA3 назначает каждому распознанному основанию одну из трех оценок качества в зависимости от надежности его распознавания. Эта модель присвоения показателей качества уменьшает требования к пропускной способности и объему памяти для хранения данных, но при этом не влияет на точность или производительность процесса.

Для получения дополнительных сведений об оценках качества см. документ «NovaSeq™ 6000 System Quality Scores and RTA3 Software» (документ № 770-2017-010).

# Папки и файлы выходных данных

## Структура папок выходных данных секвенирования

NVCSсоздает имя папки выходных данных автоматически.

🛅 Config — настройки конфигурации запуска.

**Logs** — файлы журнала, которые описывают эксплуатационные действия, аналитику прибора и события RTA3.

#### 🚞 Data

🚞 Intensities

📄 BaseCalls

LOO[X] — файлы распознавания оснований (\*.cbcl), агрегированные по одному файлу на каждую дорожку, поверхность и цикл.

🗏 s.locs — файл координат кластеров для данного прогона.

- 🛅 InterOp бинарные файлы отчета, используемые программой Sequencing Analysis Viewer.
- 🛅 Recipe файл с набором параметров, характерным для данного запуска.
- 🧰 Thumbnail Images миниатюры изображений каждой 10-й области сканирования.

🛅 LIMS — файл настройки запуска (\*.json), если применимо.

- RTA3.cfg
- RunInfo.xml
- RunParameters.xml
- RTAComplete.txt
- CopyComplete.txt
- 🗏 SampleSheet.csv таблица образцов или другой приложенный файл, если применимо.

E SequenceComplete.txt

## Выходные файлы секвенирования

Тип файла	Описание, место расположения и имя файла
Файлы распознанных оснований	Результаты анализа каждого кластера включаются в файл объединенных распознанных оснований и объединяются в один файл для каждого цикла, дорожки и поверхности. Объединенные файлы содержат информацию о распознавании основания и зашифрованный показатель качества для каждого кластера. Файлы вызова оснований используются системой платформа BaseSpace Sequence Hub или программой bcl2fastq2. Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, Например L001_1.cbcl
Файлы расположения кластеров	Бинарный файл расположения кластеров для каждой поточной ячейки содержит координаты X и Y кластеров в области сканирования. Координаты определяются по сетке шестиугольников, соответствующей схеме расположения нанолунок поточной ячейки. Data\Intensities s_[lane].locs
Файлы фильтра	В файлах фильтра указывается, прошли ли кластеры через фильтры. Файлы фильтра создаются на 26-м цикле с использованием данных 25 циклов. Для каждой области сканирования генерируется один файл фильтра. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane]_[tile].filter
Файлы InterOp	Двоичные файлы отчета, используемые программным обеспечением Sequencing Analysis Viewer. Файлы InterOp обновляются по мере выполнения прогона. Папка InterOp
Файл с информацией о прогоне	Содержит название прогона, количество циклов в каждом прочтении, указание на то, является ли прочтение прочтением индекса, а также количество полос и областей сканирования на поточной ячейке. Файл с информацией о прогоне создается в начале прогона. [Root folder], RunInfo.xml
Файлы миниатюр	Если включено, создается изображение-миниатюра для каждой десятой области сканирования в каждом цветовом канале (красном и зеленом). Thumbnail_Images\L001\C[X.1] — файлы для каждого цикла хранятся в отдельных подпапках. s_[lane]_[tile]_[channel].jpg — изображение-миниатюра включает номер области сканирования.

Документ № 100000019358, версия 18

Исключительно для использования в научно-исследовательских целях. Не предназначено для использования в диагностических процедурах.

# Безопасность Windows

## Требования к паролям

В следующей таблице приводятся требования к заданию паролей, необходимые для управляющего компьютера. При первом входе в систему программное обеспечение попросит вас изменить пароль.

Таблица 15 Правила задания паролей, принятые по умолчанию

Политика безопасности	Настройка безопасности
Запоминание паролей	Сохраняется 5 последних паролей
Максимальный срок смены пароля	Через 180 дней
Минимальный срок действия пароля	0 дней
Минимальная длина пароля	10 символов
Пароль должен соответствовать требованиям сложности	Выключено
Сохранение пароля с использованием обратимого шифрования	Выключено

## Брандмауэр Windows

Брандмауэр Windows служит для защиты управляющего компьютера посредством фильтрации входящего трафика и удаления из него потенциальных угроз. Брандмауэр включен по умолчанию, чтобы блокировать все входящие соединения. Оставьте брандмауэр включенным и разрешите исходящие соединения. Для получения дополнительной информации об исходящих соединениях обратитесь к *Руководство по подготовке рабочего места для приборов серии NovaSeq (документ № 100000019360)*.

# Набор технических средств для расширения возможностей по смягчению последствий

Набор технических средств для расширения возможностей по смягчению последствий (EMET) предотвращает возможность использования уязвимых мест в программном обеспечении и предоставляет доверенный сертификат. Эта функция выявляет и прекращает атаки, в которых используются вредоносные сертификаты.

Документ № 100000019358, версия 18

Исключительно для использования в научно-исследовательских целях. Не предназначено для использования в диагностических процедурах.

## Политики ограниченного использования программами

Для политик ограниченного использования программ (SRP) в операционной системе Windows применяются правила, которые позволяют запускать только указанное программное обеспечение. Для NovaSeq 6000 правила SRP основываются на сертификатах, названиях и расширениях файлов и на директориях.

По умолчанию SRP включены во избежание запуска нежелательного программного обеспечения на управляющем компьютере. Добавлять и удалять правила для пользовательской настройки уровня безопасности может представитель ИТ отдела или системный администратор. Если система добавлена в домен, локальный объект групповой политики (GPO) может автоматически изменять правила и выключать SRP.

Отключение правил, ограничивающих использование программного обеспечения, снимает защиту, которую эти правила обеспечивают. Изменение правил заменяет меры защиты по умолчанию.

## Разрешенные правила политики ограниченного использования программ (SRP)

На Система секвенирования NovaSeq 6000 правила SRP по умолчанию позволяют использовать следующие правила.

#### Сертификаты

DigitalSystems Illumina, Inc.

NovaSeq

#### Исполняемые файлы

Portmon.exe

Procmon.exe

Procmon64.exe

Tcpview.exe

#### Расширения файлов

- \*.bin
- \*.cbcl
- \*.cfg
- \*.config
- \*.csv
- \* dat
- \*.focus

#### Расширения файлов

- \*.imf1
- \*.ims
- \*.jpg
- \*.json
- \*.lnk
- \*.locs
- \*.log
- \*.manifest
- \*.sdf
- \*.tif

\*.txt

\*.xml

#### Директории

```
%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\*
```

## Добавление и удаление правил SRP

Добавляйте и удаляйте правила SRP, чтобы выполнить пользовательские настройки безопасности системы. Для внесения изменений в правила необходимо временно отключить SRP. Инструкции по добавлению и удалению правил SRP см. в разделе «Безопасность и работа в сети».

# Особенности режима исследования для NovaSeq 6000Dx

## Введение

Система секвенирования NovaSeq 6000Dx имеет два отдельных режима работы: режим *in vitro* (IVD) и режим только для научных исследований (RUO). В режиме RUO можно создать прогон вручную или выбрать заранее запланированный прогон из нескольких источников.

Функция Illumina Run Manager доступна только для прибора NovaSeq 6000Dx. Инструкции по созданию запланированного прогона в Illumina Run Manager или использованию режима IVD приведены в Документация на прибор NovaSeq 6000Dx (документ № 200010105)..

При работе в ручном режиме RUO применимы инструкции прибора NovaSeq 6000Dx из данного руководства, за исключением следующих случаев:

- Совместимость расходных материалов
- Индикаторы режима прибора
- Процедуры промывки для обслуживания

## Варианты планирования прогона на NovaSeq 6000Dx

Существует несколько вариантов планирования прогона на приборе NovaSeq 6000Dx:

- Вручную Ввод информации о прогоне вручную. Доступно только в режиме RUO. См. раздел *Настройка запуска секвенирования* на странице 58.
- LIMS выбор прогона с сервера LIMS или LIMS с использованием файлов (File-Based) Доступно только в режиме RUO. См. раздел *Режимы настройки запусков* на странице 32.
- Illumina Run Manager планирование прогона на Сервер DRAGEN с использованием Illumina Run Manager. Доступно как в режиме IVD, так и в режиме RUO. Для получения дополнительной информации о данном методе см. Сервер DRAGEN, и Illumina Run ManagerДокументация на прибор NovaSeq 6000Dx (документ № 200010105)..

## Совместимость расходных материалов для прибора NovaSeq 6000Dx

Для выполнения ceaнca ceквенирования на приборе NovaSeq 6000Dx требуются одноразовый набор NovaSeq 6000 или набор NovaSeq 6000Dx, картридж с буфером и пробирка для библиотеки. Расходные материалы NovaSeq 6000Dx можно использовать для ceaнca в режиме RUO. Расходные материалы NovaSeq 6000 нельзя использовать в режиме IVD.

# Индикаторы режима работы прибора NovaSeq 6000Dx

Прибор NovaSeq 6000Dx оснащен переключателем на главном экране, с помощью которого можно переключаться между режимами RUO и IVD. При переходе NovaSeq 6000Dx в режим RUO доступны параметры выбора режима запуска: запланированный или ручной.

В таблице ниже перечислены индикаторы режимов работы прибора, отображаемые на главном экране.

Режим	Цветная полоса
Режим IVD	Серый
Режим RUO	Синий

# Ресурсы и литература

На страницах технической поддержки NovaSeq в центре поддержки Illumina представлены дополнительные ресурсы. Всегда проверяйте наличие последних версий на страницах технической поддержки.

## История изменений

Документ	Дата	Описание изменений
Материал № 20023471 Документ № 1000000019358, версия 18	Апрель 2025 г.	Обновлена информация, касающаяся учетных записей операционной системы. Добавлены указания о том, что картриджи SBS и кластеризации можно замораживать повторно один раз после оттаивания. Добавлены рекомендации по устранению ошибок загрузки поточной ячейки. Добавлены указания по осмотру картриджей SBS на наличие трещин при извлечении из упаковки.
Материал № 20023471 Документ № 1000000019358, версия 17	Сентябрь 2022 г.	Добавлены особенности режима исследовательской работы NovaSeq 6000Dx.
Материал № 20023471 Документ № 1000000019358, версия 16	Июнь 2022 г.	Удалены некорректные инструкции по подготовке картриджа кластеризации.
Материал № 20023471 Документ № 1000000019358, версия 15	Май 2022 г.	Добавлено: • Информация о Illumina Connected Analytics. • Проверка предварительного вакуума. • Уточнение, что DPX3 совместим с наборами реагентов версий v1.0 и v1.5.

Документ	Дата	Описание изменений
Материал № 20023471 Документ № 1000000019358, версия 14	Сентябрь 2020 г.	Обновлены номера по каталогу для актуальных версий наборов реагентов v1.0 и v1.5.
Материал № 20023471 документ № 1000000019358, версия 13	Июль 2020 г.	Добавлена информация в поддержку набора реагентов NovaSeq 6000 версии v1.5 и программного обеспечения версии v1.7, которое позволяет выполнять разбивку метрик прогона по отдельным дорожкам.
Материал № 20023471 документ № 1000000019358, версия 12	Февраль 2020 г.	Информация по денатурации и разведению перенесена в новый документ Руководство по денатурированию и разбавлению системы NovaSeq 6000 (документ № 1000000106351).
Материал № 20023471 документ № 1000000019358, версия 11	Февраль 2019 г.	Обновлена таблица «Плексность пула библиотек» для рабочего процесса Хр.
Материал № 20023471 документ № 1000000019358, версия 10	Январь 2019 г.	Добавлена информация о поточной ячейке SP. Обновлены таблицы рекомендуемой плексности пула библиотек для рабочих процессов Standard и Xp.
Материал № 20023471 документ № 1000000019358, версия 09	Ноябрь 2018 г.	Исправлена ссылка на страницу поддержки NovaSeq 6000. Исправлено отсутствующее предупреждение.

Документ	Дата	Описание изменений
Материал № 20020483, документ № 100000019358, версия 08	Сентябрь 2018 г.	Добавлена информация о наборе NovaSeq 6000 S4 (200 циклов). Добавлена информация об учетной записи пользователя. Добавлены концентрации для загрузки одной ячейки. Обновлены инструкции по ступенчатому началу запусков. Обновлены инструкции по входу в BaseSpace. Обновлены инструкции по входу в BaseSpace. Обновлены инструкции по проверке перед запуском. Добавлены комментарии о требовании подтверждать выключение или перезапуск. Добавлено примечание о неполной промывке после запуска. Разъяснена информация о профилактической промывке. Разъяснена информация об обновлении программного обеспечения.

Документ	Дата	Описание изменений
Материал № 20020483, документ № 100000019358, версия 07	Апрель 2018 г.	Уточнено использование пробирки для библиотеки для смешивания реагентов на этапе ускорения перед секвенированием. Добавлена таблица с описанием символов, помещаемых на расходные материалы или упаковку расходных материалов. Добавлена информация о службе мониторинга компании Illumina Proactive в раздел «Режимы настройки запуска». Добавлена информация об API LIMS NovaSeq. Обновлены описания программного обеспечения до Управляющее программное обеспечение NovaSeq v1.4.0 Обновлено типичное количество считываний, проходящих через фильтр, для поточных ячеек S2. Обновлены рекомендуемые концентрации загрузки для рабочего процесса NovaSeq XP. Обновлены инструкции по вскрытию упаковки поточной ячейки. Разъяснена процедура загрузки библиотек в поточную ячейку. Добавлено примечание о готовности прибора начать профилактическую промывку. Добавлена информация о таймере отсчета к ступенчатому началу. Обновлены инструкции о том, как добавлять или удалять правила SRP.
Документ	Дата	Описание изменений
--	-----------------	--
Документ № 100000019358, версия 06	Февраль 2018 г.	Добавлено примечание в раздел «Поточная ячейка», в котором обозначено, что при использовании поточной ячейки S1 требуется ПО версии 1.3.1. Обновлены описания и стандартный объем в таблице в разделе <i>«Методы загрузки</i> <i>библиотек».</i> В раздел <i>«Компоненты набора реагентов»</i> добавлено предупреждение. В таблицу расходных материалов добавлены пробирки объемом 0,5 и 1,5 мл, а также наконечники для пипеток объемом 20, 200 и 1000 мкл. В таблицу с оборудованием добавлен мерный цилиндр. Добавлен раздел <i>«Подготовка поточной</i> <i>ячейки»</i> в главы 4 и 5, в эти разделы перемещены этапы из главы 6. Обновлен общий объем для поточной ячейки S1 в главе 4. Добавлена таблица «Рекомендуемая плексность пулов библиотек» в раздел <i>«Создание пула нормализованных библиотек»</i> в главе 4. Обновлены этапы <i>«Разморозьте картридж SBS</i> <i>и картридж кластера»</i> в главах 4 и 5. Разъяснены инструкции по размораживанию в разделе <i>«Подготовка поточной ячейки»</i> . Обновлена информация о размораживании в разделе <i>«Рекомендуемая</i> плексность пулов библиотек» в раздел <i>«Создание пула нормализованных библиотек»</i> в главе 5. Добавлена таблица «Рекомендуемая плексность пулов библиотек» в разделе <i>«Создание пула нормализованных библиотек»</i> в главе 5. Добавлена таблица «Рекомендуемая плексность пулов библиотек» в разделе <i>«Создание пула нормализованных библиотек»</i> в главе 5. Добавлено предложение с указанием того, что поточная ячейка должна использоваться в течение 12 часов после ее извлечения из упаковки в разделах <i>«Краткий обзор рабочего</i> <i>процесса NovaSeq Xp»</i> и <i>«Подготовка поточной</i> <i>ячейки»</i> .

Документ	Дата	Описание изменений
Документ № 100000019358, версия 05	Декабрь 2017 г.	Добавлено разъяснение о пустой пробирке для библиотеки для Хр в схеме «Рабочий процесс секвенирования». В разделе «Денатурирование библиотек и добавление контрольного образца PhiX (дополнительно)» для рабочего процесса Standard обновлены объемы Tris-HCI в таблице для этапа 5. В раздел «Подготовка мастер-микса ExAmp для рабочего процесса NovaSeq Xp» после шага 4 добавлено примечание о необходимости перемешивания на вихревой мешалке для достижения наилучших результатов. В разделе «Загрузка библиотек в поточную ячейку» для рабочего процесса NovaSeq Xp добавлено напоминание после этапа 3 о необходимости загружать образцы медленно.

Документ	Дата	Описание изменений
Материал № 20023471 Документ № 100000019358, версия 04	Октябрь 2017 г.	Добавлена загрузка в индивидуальные дорожки в список функций прибора. В раздел «Расходные материалы» добавлены наборы на NovaSeq XP 2 и NovaSeq XP 4 канала. Добавлены комплект распределителей на NovaSeq XP 2 канала и комплект распределителей NovaSeq на 4 канала. Оборудование — добавлены док-станция для поточной ячейки NovaSeq XP и пипетка P200 для рабочего процесса NovaSeq Xp. Добавлена глава «Подготовка расходных материалов» для рабочего процесса NovaSeq XP. Раздел «Опорожнение бутылей с использованными реагентами» перенесен из главы «Секвенирование» в начало глав «Стандартный рабочий процесс NovaSeq» и «Рабочий процесс NovaSeq Xp». Обновлены таблицы «Концентрация объединенных библиотек» и «Рекомендуемая загрузочная концентрация» для рабочего процесса Standard.

Документ	Дата	Описание изменений
Материал № 20020483, Документ № 100000019358, версия 03	Сентябрь 2017 г.	Обновлены описания программного обеспечения для управляющего программного обеспечение NovaSeq v1.2, включающего поддержку поточных ячеек S1 и S4. Добавлены требования к объему свободного дискового пространства для запусков с двумя поточными ячейками при использовании ячеек S1 и S4. Уточнены требования по наименованию определенных файлов *.json. Переработана обзорная информация о комплектах в главе <i>Комплекты и принадлежности</i> . Эта глава содержит сведения о конфигурациях, компонентах и маркировке совместимости комплектов для заг рузки библиотек и реагентов. Добавлен реагент Комплект реагентов NovaSeq 6000 в перечень расходных материалов, предоставляемых пользователем. Обновлены инструкции по объединению и денатурированию библиотек для включения сведений по поточным ячейкам S1 и S4. Обновлены инструкции по размораживанию картриджей реагентов для указания необходимости двухчасового содержания на водяной бане для S1 и S2 и четырехчасового содержания на водяной бане для S1 и S2 и четырехчасового содержания на водяной бане для S4. Обновлены по аточным ячейкам S1 и S4. Обновлены инструкции по размораживанию картриджей реагентов для указания необходимости двухчасового содержания на водяной бане для S1 и S2 и четырехчасового содержания на водяной бане для S1 и S2 и четырехчасового содержания на водяной бане для S4. Обновлены по автоматическому обновлению программного обеспечения. Ссылка на документ <i>«Снижение объема хранилища для данных полного генома»</i> (публ. №970-2012-013) заменена на «Сравнение качества данных между сериями NovaSeq и HiSeq X Ten» (публ. №770-2017- 010). Добавлено примечание в этап 3 в разделе <i>«Ввод параметров запуска»</i> в главе 6. Обновлен раздел со сведениями о <i>Области сканирования поточной ячейки</i> для включения сведений о плитках S1 и S4.

Документ № 100000019358, версия 18

Исключительно для использования в научно-исследовательских целях. Не предназначено для использования в диагностических процедурах.

Документ	Дата	Описание изменений
Материал № 20018871, документ № 100000019358, версия 02.	Апрель 2017 г.	<ul> <li>Добавлена указанная далее информация.</li> <li>Расходные материалы, предоставляемые компанией Illumina, которые необходимы для проведения прогона.</li> <li>Условия хранения компонентов комплекта реагентов.</li> <li>Рекомендации по загрузочным концентрациям библиотек.</li> <li>Разбавление NaOH для двух поточных кювет.</li> <li>Этап доведения поточной ячейки до комнатной температуры перед загрузкой.</li> <li>Этап замены перчаток после опорожнения бутылей с использованными реагентами.</li> <li>Конфигурирование выходных данных LIMS для LIMS-систем разработанных сторонними организациями.</li> <li>Соглашение о наименовании протоколов анализов.</li> <li>Значки управления процессами, поиск и устранение неисправностей.</li> <li>Приложение, содержащее функции безопасности Windows и инструкции по их конфигурированию.</li> <li>Контактная информация для оказания технической помощи.</li> <li>Время размораживания картриджа с реагентами увеличено до 4 часов.</li> <li>Обновлены инструкции по добавлению PhiX: объем 1%-го раствора PhiX изменен и составляет теперь 0,9 мкл, добавлено положение об использовании 10 мМ буферного раствора трис-HCI с pH 8,5 для разбавления PhiX с концентрацией 10 нМ.</li> <li>Обновлены инструкции по очистке поточных кювет и площадки для поточных кювет — теперь очистку нужно выполнять только при наличии видимых посторонних частиц.</li> <li>Обновлены частота проведения профилактической промывки — теперь она составляет один раз в 14 дней.</li> <li>Реорганизованы и консолидированы инструкции по подготовке расходных материалов с тем, чтобы улучшить единообразие текста.</li> <li>Створчатые дверцы переименованы и упоминаются теперь как дверцы переименованы и упоминаются теперь как дверцы отсека для жидкостей.</li> </ul>

Документ	Дата	Описание изменений
Материал № 20018406 документ № 1000000019358, версия 01	Март 2017 г.	Исправлено название столбца на экране Process Management (Управление процессом) на Sequencing (Секвенирование).
Материал № 20015871 документ № 1000000019358, версия 00	Февраль 2017 г.	Первый выпуск.



lllumina, Inc. 5200 Illumina Way San Diego, California 92122 США +1-800-809-ILMN (4566) +1-858-202-4566 (за пределами Северной Америки) techsupport@illumina.com www.illumina.com

Исключительно для использования в научно-исследовательских целях. Не предназначено для использования в диагностических процедурах.

© 2025 Illumina, Inc. Все права защищены.

