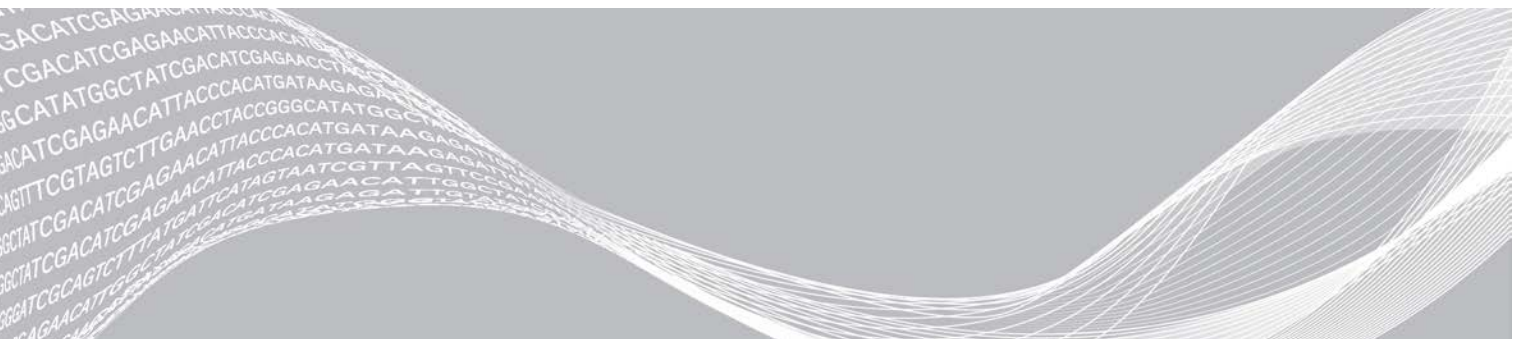


NovaSeq 6000

Руководство для системы секвенирования



Настоящий документ и его содержание являются собственностью компании Illumina, Inc. и ее филиалов (далее — Illumina) и предназначены для использования исключительно в рамках договора с потребителем при эксплуатации изделия (-ий), 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. Посредством настоящего документа компания Illumina не передает какую-либо лицензию на патент, товарный знак, авторское право или права, регулируемые общим правом, или аналогичные права какой-либо третьей стороне.

Инструкции, изложенные в настоящем документе, должны строго и точно соблюдаться квалифицированным и прошедшим соответствующее обучение персоналом для обеспечения правильной и безопасной эксплуатации изделия (-ий), описанного (-ых) в настоящем документе. Перед началом эксплуатации изделий убедитесь, что вы полностью прочитали и поняли содержание настоящего документа.

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

КОМПАНИЯ ILLUMINA НЕ НЕСЕТ НИКАКОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТИ, ВОЗНИКАЮЩЕЙ ВСЛЕДСТВИЕ НЕНАДЛЕЖАЩЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИЗДЕЛИЯ (-ИЙ), ОПИСАННОГО (-ОХ) В НАСТОЯЩЕМ ДОКУМЕНТЕ (ВКЛЮЧАЯ ИХ ЧАСТИ ИЛИ ЧАСТИ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ).

© Illumina, Inc., 2019 г. Все права защищены.

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

История редакций

Документ	Дата	Описание изменений
Материал № 20023471, документ № 1000000019358, версия 11	Февраль 2019 г.	Обновлена таблица плексности пула библиотек для рабочего процесса Хр.
Материал № 20023471, документ № 1000000019358, версия 10	Январь 2019 г.	Добавлена информация по проточной кювете SP. Обновлены таблицы рекомендуемой плексности пула библиотек для стандартного рабочего процесса и рабочего процесса Хр.
Материал № 20023471, документ № 1000000019358, версия 09	Ноябрь 2018 г.	Исправлена ссылка на страницу поддержки NovaSeq 6000. Исправлено пропущенное предупреждение.
Материал № 20020483, документ № 1000000019358, версия 08	Сентябрь 2018 г.	Добавлена информация о комплекте NovaSeq 6000 S4 (200 циклов). Добавлена информация об учетных записях пользователей. Добавлены загрузочные концентрации для одной проточной кюветы. Обновлена инструкция по ступенчатому запуску циклов. Обновлена инструкция по входу в BaseSpace. Обновлена инструкция по проверке перед циклом. Добавлены примечания о требовании подтвердить завершение работы или перезапуск. Добавлено примечание о незавершенной промывке после цикла. Уточнена информация о профилактической промывке. Уточнена информация об обновлении программного обеспечения

Документ	Дата	Описание изменений
Материал № 20020483, документ № 1000000019358, версия 07	Апрель 2018 г.	<p>Объяснено использование пробирки с библиотекой для смешивания реактивов на этапе стимуляции перед секвенированием.</p> <p>Добавлена таблица с описанием символов, используемых на расходных материалах или их упаковках.</p> <p>Добавлена информация о службе мониторинга Illumina Proactive в раздел «Режимы настройки цикла».</p> <p>Добавлена информация об интерфейсе прикладных программ (API) NovaSeq LIMS .</p> <p>Обновлены описания программного обеспечения для управляющего программного обеспечения NovaSeq версии 1.4.0.</p> <p>Обновлены типичные количества считываний, проходящих фильтр, для проточных кювет S2.</p> <p>Обновлены рекомендации по загрузочным концентрациям для рабочего процесса NovaSeq Xp.</p> <p>Обновлены инструкции по вскрытию упаковки проточной кюветы.</p> <p>Объяснена методика загрузки библиотек в проточную кювету.</p> <p>Добавлено примечание о доступности прибора для запуска профилактической промывки.</p> <p>Добавлена информация о таймере обратного отсчета ступенчатого запуска циклов.</p> <p>Обновлены инструкции о порядке добавления или удаления правил SRP (ограниченное использование программ).</p>

Документ	Дата	Описание изменений
Документ № 1000000019358, версия 06	Февраль 2018 г.	<p>Добавлено примечание в разделе «Проточная кювета», указывающее на необходимость применения программного обеспечения версии 1.3.1 при использовании проточной кюветы S1.</p> <p>Обновлены описания и стандартный объем в таблице в разделе «Методы загрузки библиотек».</p> <p>Добавлено предупреждение в разделе «Компоненты комплекта реактива».</p> <p>Добавлены пробирки 0,5 и 1,5 мл и наконечники пипеток для пипеток 20, 200, 1000 мкл в таблицу «Расходные материалы». Добавлен мерный цилиндр в таблицу «Оборудование».</p> <p>Добавлены разделы «Подготовка проточной кюветы» в главы 4 и 5, этапы из главы 6 перенесены в эти разделы.</p> <p>Обновлены общие объемы для проточной кюветы S1 в главе 4.</p> <p>Добавлена таблица «Рекомендованная плексность пула библиотек» в раздел «Создание нормализованного пула библиотек» в главе 4.</p> <p>Обновлены этапы методики «Размораживание картриджей SBS и кластерных картриджей» в главах 4 и 5.</p> <p>Объяснены инструкции по размораживанию в разделе «Подготовка проточной кюветы».</p> <p>Обновлена информация о размораживании в разделе «Рекомендованные загрузочные концентрации для NovaSeq Xp».</p> <p>Обновлена таблица «Рекомендованная плексность пула библиотек» в разделе «Создание нормализованного пула библиотек» в главе 5.</p> <p>Добавлено предложение, уточняющее, что проточная кювета должна быть использована в течение 12 часов после извлечения из упаковки в разделы «Резюме рабочего процесса NovaSeq Xp» и «Подготовка проточной кюветы».</p>
Документ № 1000000019358, версия 05	Декабрь 2017 г.	<p>Добавлено уточнение о пустой пробирке с библиотекой для Xp в диаграмме «Рабочий процесс секвенирования».</p> <p>Обновлены объемы трис-HCl в таблице для этапа 5 раздела о денатурировании библиотеки и дополнительном добавлении контрольного образца PhiX для стандартного рабочего процесса.</p> <p>Добавлено примечание после этапа 4 в разделе «Подготовка смеси ExAmp Master Mix» рабочего процесса NovaSeq Xp с указанием на необходимость перемешивания в вихревой мешалке для получения наилучших результатов.</p> <p>Добавлено напоминание после этапа 3 в разделе «Загрузка библиотек в проточную кювету» рабочего процесса NovaSeq Xp о необходимости медленной загрузки образцов.</p>

Документ	Дата	Описание изменений
Материал № 20023471, документ № 1000000019358, версия 04	Октябрь 2017 г.	<p>Добавлена возможность отдельной загрузки дорожки в список функций прибора.</p> <p>Расходные материалы — добавлены комплект NovaSeq Xp 2-Lane и комплект NovaSeq Xp 4-Lane. Добавлены блок коллектора NovaSeq Xp 2-Lane и блок коллектора NovaSeq 4-Lane.</p> <p>Оборудование — добавлены станция для проточной кюветы NovaSeq Xp и пипетка P200 для рабочего процесса NovaSeq Xp.</p> <p>Добавлена глава «Подготовка расходных материалов» для рабочего процесса NovaSeq Xp</p> <p>Перемещен раздел «Слив из бутылей для использованных реактивов» из главы «Секвенирование» в начало глав «Стандартный рабочий процесс NovaSeq» и «Рабочий процесс NovaSeq Xp».</p> <p>Обновлены таблицы «Концентрация объединенных библиотек» и «Рекомендованная загрузочная концентрация» для стандартного рабочего процесса.</p>

Документ	Дата	Описание изменений
<p>Материал № 20020483, документ № 1000000019358, версия 03</p>	<p>Сентябрь 2017 г.</p>	<p>Обновлены описания программного обеспечения для управляющего программного обеспечения NovaSeq v1.2, включающего поддержку проточных кювет S1 и S4. Добавлены требования к объему свободного дискового пространства для циклов с двумя проточными кюветами при использовании кювет S1 и S4.</p> <p>Уточнены требования по наименованию определенных файлов *.json.</p> <p>Переработана обзорная информация о комплектах в главе «Комплекты и принадлежности». Эта глава содержит сведения о конфигурациях, компонентах и маркировке совместимости комплектов для загрузки библиотек и реактивов.</p> <p>К числу расходных материалов, поставляемых пользователем, добавлен комплект реактива NovaSeq 6000. Обновлены инструкции по объединению и денатурированию библиотек для включения сведений по проточным кюветам S1 и S4.</p> <p>Обновлены инструкции по размораживанию картриджей реактивов для указания необходимости двухчасового содержания на водяной бане для S1 и S2 и четырехчасового содержания на водяной бане для S4.</p> <p>Обновлено описание пробирки библиотеки, картриджей реактивов и проточных кювет для включения сведений о компонентах S4.</p> <p>В главу «Техническое обслуживание» добавлены разделы по автоматическому обновлению программного обеспечения.</p> <p>Заменена ссылка на публикацию, вместо <i>Reducing Whole-Genome Data Storage Footprint</i> (пуб. № 970-2012-013) указана <i>NovaSeq Series and HiSeq X Ten Data Quality Comparison</i> (пуб. № 770-2017-010).</p> <p>Добавлено примечание к этапу 3 в разделе «Ввод параметров цикла» в главе 6.</p> <p>Обновлен раздел со сведениями о <i>плитках проточной кюветы</i> для включения сведений о плитках S1 и S4.</p>

Документ	Дата	Описание изменений
Материал № 20018871, документ № 1000000019358, версия 02	Апрель 2017 г.	<p>Добавлена следующая информация.</p> <ul style="list-style-type: none"> Расходные материалы, предоставляемые компанией Illumina, которые необходимы для проведения цикла. Условия хранения компонентов комплекта реактивов. Рекомендации по загрузочным концентрациям библиотек. Разбавление NaOH для двух проточных кювет. Этап доведения проточной кюветы до комнатной температуры перед загрузкой. Этап замены перчаток после опорожнения бутылей с использованными реактивами. Конфигурирование выходных данных LIMS для LIMS-систем разработанных сторонними организациями. Соглашение о наименовании протоколов анализов. Значки управления процессами, поиск и устранение неисправностей. Приложение, содержащее функции безопасности Windows и инструкции по их конфигурированию. Контактная информация для оказания технической помощи. <p>Время размораживания картриджа с реактивами увеличено до 4 часов.</p> <p>Обновленные инструкции по добавлению PhiX: объем 1-процентного раствора PhiX изменен и составляет теперь 0,9 мкл, добавлено положение об использовании 10 мМ буферного раствора трис-HCl с pH 8,5 для разбавления PhiX с концентрацией 10 нМ.</p> <p>Обновлены инструкции по очистке проточных кювет и площадки проточной кюветы — теперь очистку нужно выполнять только при наличии видимых посторонних частиц.</p> <p>Обновлена частота проведения профилактической промывки — теперь она составляет один раз в 14 дней.</p> <p>Реорганизованы и консолидированы инструкции по подготовке расходных материалов с тем, чтобы улучшить единообразие текста.</p> <p>Створчатые дверцы переименованы и упоминаются теперь как дверцы отсека для жидкостей.</p>
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.

Содержание

Глава 1. Обзор	1
Введение	1
Дополнительные ресурсы	2
Обзор секвенирования	3
Рабочий процесс секвенирования	4
Компоненты прибора	6
Глава 2. Комплекты и принадлежности	12
Обзор комплектов	12
Компоненты комплекта реактива	13
Компоненты комплекта NovaSeq Xp	17
Станция проточной кюветы NovaSeq Xp	18
Описание символов	19
Глава 3. Начало работы	21
Запуск прибора	21
Настройки конфигурации	22
Расходные материалы и оборудование, приобретаемые пользователем	28
Глава 4. Стандартный рабочий процесс: подготовка расходных материалов	32
Методы	32
Руководство по библиотекам	32
Размораживание картриджей SBS и кластерных картриджей	33
Слив из бутылей для использованных реактивов	34
Подготовка проточной кюветы	35
Объединение и денатурирование библиотек для секвенирования	35
Глава 5. Рабочий процесс NovaSeq Xp: подготовка расходных материалов	41
Резюме рабочего процесса NovaSeq Xp	41
Методы	42
Руководство по библиотекам	42
Размораживание картриджей SBS и кластерных картриджей	43
Слив из бутылей для использованных реактивов	44
Подготовка проточной кюветы	46
Объединение, денатурирование и загрузка библиотек для секвенирования	46
Глава 6. Секвенирование	55
Настройка цикла секвенирования	55
Отслеживание выполнения цикла	63
Ступенчатый запуск циклов	64
Удаление цикла	65

Отсоединение положения № 30	65
Автоматическая промывка после цикла	66
Глава 7. Техническое обслуживание	67
Профилактическое техническое обслуживание	67
Выполнение профилактической промывки	67
Обновление программного обеспечения	71
Приложение А. Поиск и устранение неисправностей	73
Ресурсы поиска и устранения неисправностей	73
Файлы поиска и устранения неисправностей	73
Ошибки проверок перед циклом	73
Управление процессом: поиск и устранение неисправностей	74
Неудача цикла до кластеризации	75
Окончание цикла	76
Выключение прибора	77
Приложение В. Анализ в режиме реального времени	78
Обзор программного обеспечения Real-Time Analysis	78
Рабочий процесс анализа в режиме реального времени	80
Приложение С. Выходные папки и файлы	84
Структура папок выходных данных секвенирования	84
Выходные файлы секвенирования	85
Приложение D. Безопасность Windows	86
Конфигурации системы безопасности	86
Требования к паролям	86
Брандмауэр Windows	86
Набор технических средств для расширения возможностей по смягчению последствий	87
Политики ограниченного использования программ	87
Алфавитный указатель	90
Техническая помощь	95

Глава 1. Обзор

Введение	1
Дополнительные ресурсы	2
Обзор секвенирования	3
Рабочий процесс секвенирования	4
Компоненты прибора	6

Введение

Система секвенирования Illumina® NovaSeq™ 6000 предлагает гибкую и масштабируемую по производительности технологию секвенирования на платформе промышленного уровня, имеющую при этом эффективность и экономичность на уровне лабораторных настольных систем.

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 проточных кювет, что позволяет менять объем выходных данных в широком интервале. Можно секвенировать одну или две проточные кюветы с разной длиной считывания одновременно. Смешивание и сочетание трех типов проточных кювет и разных длин считывания.
- ▶ **Структурированная проточная кювета** — структурированная проточная кювета генерирует плотно упакованные в пространстве кластеры. Уменьшение расстояния между нанолунками повышает плотность кластеров и улучшает выходные данные.
- ▶ **Смешивание ExAmp в системе** — система NovaSeq 6000 выполняет смешивание реактивов ExAmp с библиотекой, амплификацию библиотеки и генерацию кластера, упрощая рабочий процесс секвенирования.
- ▶ **Отдельная загрузка дорожки** — станция проточной кюветы NovaSeq Xp позволяет выполнять предварительную загрузку библиотек на отдельные дорожки проточной кюветы и уменьшить объем загружаемой библиотеки.
- ▶ **Сканирование дорожек с высокой производительностью** — в системе NovaSeq 6000 используется только камера с технологией двунаправленного сканирования, которая позволяет быстро делать снимки проточной кюветы одновременно по двум цветовым каналам.
- ▶ **Анализ в режиме реального времени (RTA)** — система NovaSeq 6000 использует версию RTA, известную как RTA3. Это интегрированное программное обеспечение анализирует изображения и распознает основания.
- ▶ **Интеграция с BaseSpace™ Sequence Hub** — рабочий процесс секвенирования интегрирован в BaseSpace Sequence Hub — среду, созданную компанией Illumina для вычислений в области геномики, анализа и хранения данных, а также совместной работы. По мере выполнения цикла файлы выходных данных направляются в эту среду в режиме реального времени.
- ▶ **Готовность к использованию BaseSpace Clarity LIMS** — эффективность эксплуатации повышается за счет полной цепочки прослеживаемости образцов и реактивов, применения автоматизированных рабочих процессов и интегрированности операций прибора.

Дополнительные ресурсы

Дополнительные ресурсы по системе содержатся на [страницах раздела технической поддержки системы секвенирования NovaSeq 6000](#) на веб-сайте компании Illumina. Они включают в себя программное обеспечение, обучающие материалы, список совместимой продукции и сопутствующую документацию. Всегда просматривайте страницы раздела поддержки, чтобы получать самые последние версии информационных ресурсов.

Ресурс	Описание
Custom Protocol Selector (Средство выбора пользовательского протокола)	Мастер, позволяющий создать документацию полного цикла, которая описывает конкретные методы подготовки библиотеки, параметры цикла и методы анализа, используемые для цикла секвенирования.
<i>Руководство по подготовке рабочего места для приборов серии NovaSeq (документ № 1000000019360)</i>	Содержит технические характеристики, касающиеся лабораторного пространства, требований к электроснабжению и рекомендаций по условиям окружающей среды и сетевому окружению.
<i>Руководство по технике безопасности и нормативно-правовому соответствию для систем серии NovaSeq (документ № 1000000019357)</i>	Содержит рекомендации по эксплуатационной безопасности, сведения о положениях соответствия и маркировке прибора.
<i>Руководство по нормативно-правовому соответствию считывающего устройства RFID (документ № 1000000002699)</i>	Содержит сведения о считывателе RFID, установленном в приборе, в том числе о сертификатах соответствия, и рекомендации по безопасности.
<i>Руководство по подготовке пользовательских праймеров для приборов серии NovaSeq (документ № 1000000022266)</i>	Содержит сведения о замене праймеров секвенирования производства компании Illumina пользовательскими праймерами секвенирования.

Обзор секвенирования

Генерация кластеров

Во время генерации кластеров отдельные молекулы ДНК связываются с поверхностью проточной кюветы, одновременно происходит амплификация для формирования кластеров. Для стандартного рабочего процесса реактивы ExAmp master mix смешиваются с библиотекой в системе до этапа генерации кластеров. Для рабочего процесса NovaSeq Xp реактивы ExAmp и библиотеки должны быть смешаны и перенесены в проточную кювету вне системы. Объемы различаются в зависимости от типа проточной кюветы и рабочего процесса.

Секвенирование

Кластеры визуализируются с помощью двунаправленного сканирования и химических веществ 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 плитке. Распознавание выполняется на основе соотношения красного и зеленого сигналов для каждого кластера, место расположения которых определяется структурированной проточной кюветой. Процесс повторяется для каждого вложенного цикла в цикле 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 поддержки [BaseSpace Sequence Hub](#) на веб-сайте компании [Illumina](#).

Рабочий процесс секвенирования



Разморозьте картриджи с реактивами SBS и реактивами для кластеризации.



Выполните объединение и денатурирование библиотек. При использовании стандартного рабочего процесса добавьте библиотеки в пробирку для библиотек. При использовании рабочего процесса NovaSeq Xr загрузите смесь реактивов ExAmp и библиотеки в проточную кювету. При использовании обоих рабочих процессов в размороженный кластерный картридж должна быть вставлена пробирка для библиотеки.



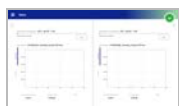
Выберите в интерфейсе ПО опцию **Sequence** (Последовательность) и укажите, одна или две проточные кюветы будут использоваться в данном цикле.



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



Укажите параметры цикла на экране Run Setup (Настройка цикла). Если настроено использование BaseSpace Sequence Hub, войдите туда через экран входа. После завершения проверок перед циклом цикл секвенирования начнется автоматически.



Контролируйте выполнение цикла на экране Sequence (Последовательность) через BaseSpace Sequence Hub, если включена возможность мониторинга цикла, или через компьютер, входящий в сеть, используя средство просмотра Sequencing Analysis Viewer. Данные передаются в указанную папку выходных данных.



Промывка прибора начинается автоматически после завершения секвенирования.

Методы загрузки библиотек

Библиотеки загружают в проточную кювету NovaSeq 6000, используя один из двух следующих методов, в зависимости от выбранного рабочего процесса. Процедуры настройки цикла секвенирования различаются в зависимости от рабочего процесса. Убедитесь в выполнении инструкций, соответствующих желаемому методу. См. раздел *«Стандартный рабочий процесс: подготовка расходных материалов»* на стр. 32 и *«Рабочий процесс NovaSeq Xr: подготовка расходных материалов»* на стр. 41.

Таблица 1. Методы загрузки библиотек

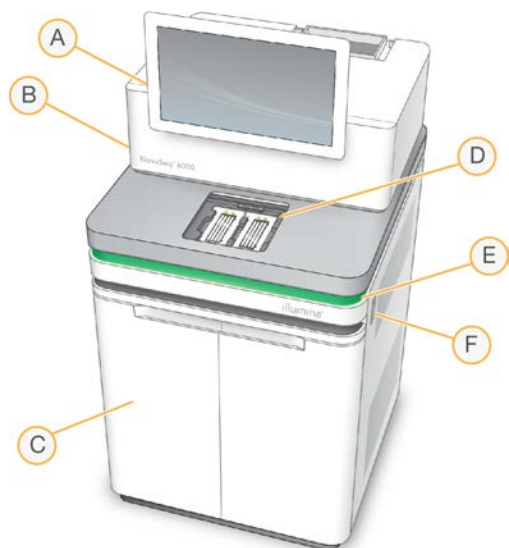
Рабочий процесс	Метод загрузки пула библиотеки и смешивания реактивов ExAmp	Возможность отдельного использования дорожек и анализ данных	Загружаемый объем [*] , режимы SP/S1 – S2 – S4 (мкл)
Стандартный	Отдельный пул библиотеки загружают в пробирку для библиотеки, в системе производится смешивание содержимого пробирки для библиотеки с реактивами ExAmp, смесь автоматически переносится в проточную кювету для проведения этапов кластеризации и секвенирования. На этапе стимуляции перед секвенированием используются реактивы, находящиеся в кластерном картридже. Эти реактивы смешиваются с содержимым пробирки для библиотеки с целью образования кондиционирующей смеси, что помогает повысить эффективность кластеризации.	Один пул библиотеки распределяется и секвенируется по всем дорожкам проточной кюветы. Считывания по всем дорожкам анализируются совместно.	150–225–465 мкл (вся проточная кювета)
NovaSeq Xp	Одну или несколько библиотек (количество соответствует количеству дорожек проточной кюветы) смешивают с реактивами ExAmp вручную вне прибора и напрямую загружают в отдельные дорожки проточной кюветы, используя станцию проточной кюветы NovaSeq Xp. Заполненную проточную кювету помещают в прибор для выполнения этапов кластеризации и секвенирования. На этапе стимуляции перед секвенированием используется пустая пробирка для библиотеки, для смешивания реактивов, которые находятся в кластерном картридже. Эти реактивы образуют кондиционирующую смесь, что помогает повысить эффективность кластеризации.	Каждая библиотека загружается в отдельную дорожку проточной кюветы, после чего выполняется секвенирование. Можно использовать разные пулы, аликвоты одного пула или произвольные комбинации. Считывания по разным дорожкам анализируют отдельно или совместно, в зависимости от используемых образцов.	27–33–45 мкл (отдельные дорожки)

^{*} Для рабочего процесса NovaSeq Xp концентрации денатурируемых библиотек должны быть на 25–50 % меньше концентраций, используемых для стандартного рабочего процесса.

Компоненты прибора

Система секвенирования NovaSeq 6000 состоит из монитора с сенсорным экраном, полосы статуса, кнопки питания с расположенными рядом портами USB и трех отсеков.

Рисунок 1. Внешние комплектующие



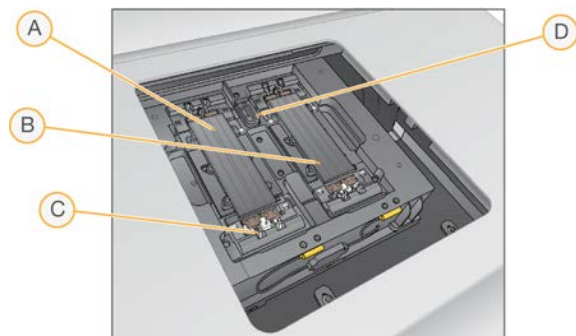
- A **Монитор с сенсорным экраном** — отображает интерфейс программного обеспечения NVCS для конфигурирования системы, настройки и отслеживания цикла.
- B **Отсек оптики** — здесь находятся оптические комплектующие, которые позволяют визуализировать обе поверхности проточных кювет.
- C **Отсек для жидкостей** — здесь располагаются картриджи реактивов и буферных растворов, а также бутылки для отработанных реактивов.
- D **Отсек проточной кюветы** — здесь располагаются проточные кюветы.
- E **Полоса статуса** — отображает статус проточной 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 проточной кюветы

Отсек для проточной кюветы оснащен площадкой проточной кюветы, при этом слева располагается проточная кювета А, а справа — проточная кювета В. На каждой стороне есть четыре зажима, которые автоматически удерживают проточную кювету в нужном положении и фиксируют ее.

Мишень центровки оптической системы, установленная на площадке проточной кюветы, служит для выявления и устранения проблем с оптикой. Когда ПО NVCS выдает соответствующее сообщение, по мишени центровки оптической системы производятся выравнивание системы и корректировка фокусировки камеры, что позволяет улучшить результаты секвенирования.

Рисунок 2. Площадка проточной кюветы



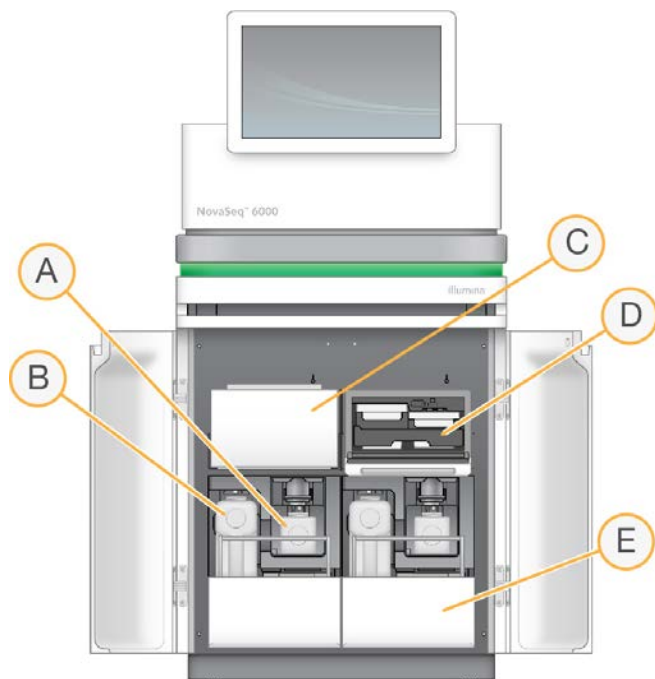
- A Держатель проточной кюветы стороны А.
- B Держатель проточной кюветы стороны Б.
- C Зажим проточной кюветы (один из четырех на каждой стороне).
- D Мишень центровки оптической системы.

Программное обеспечение контролирует открывание и закрывание дверцы отсека для проточных кювет. Дверца открывается автоматически для загрузки проточной кюветы при выполнении цикла или для профилактической промывки. После загрузки программное обеспечение закрывает дверцу отсека, перемещает проточную кювету в нужное положение, закрывает зажимы и включает вакуумный затвор. Датчики проверяют наличие проточной кюветы и ее совместимость с прибором.

Отсек для жидкостей

Настройка цикла подразумевает наличие доступа к отсекам для жидкостей, чтобы загружать туда реактивы и буферные растворы и опорожнять бутылки для использованных реактивов. Отсек для жидкостей закрывается двумя дверцами, состоящими из двух совмещающихся друг с другом половинок для проточной кюветы А и для проточной кюветы В.

Рисунок 3. Компоненты отсека для жидкостей



- A **Малая бутылка для использованных реактивов** — предназначена для сбора использованных реактивов из картриджа кластера; оснащена держателем крышки для удобства хранения крышки.
- B **Большая бутылка для использованных реактивов** — предназначена для сбора использованных реактивов из картриджей буферных растворов и SBS; оснащена держателем крышки для удобства хранения крышки.
- C **Холодильник для реактивов** — охлаждает картридж SBS и кластерный картридж.
- D **Ящик холодильника для реактивов** — имеет кодированные цветными бирками положения: слева (серая бирка) — для картриджа SBS, справа (оранжевая бирка) — для кластерного картриджа.
- E **Ящик для буферных растворов** — в левой части находится большая бутылка для использованных реактивов, в правой располагается картридж с буфером.

Использованные реактивы

Жидкостные системы предназначены для направления реактивов из картриджей кластеризации, которые могут потенциально быть опасными, в небольшие бутылки для использованных реактивов. Реактивы из SBS и буферных картриджей направляются в большие бутылки для использованных реактивов. Однако между потоками реактивов может существовать перекрестное загрязнение. Из соображений безопасности рекомендуется считать, что в обеих бутылках с использованными реактивами могут находиться потенциально опасные вещества. Подробная информация о реактивах приводится в соответствующих паспортах безопасности вещества (SDS).



ПРИМЕЧАНИЕ

Если система настроена на сбор использованных реактивов во внешний резервуар, то поток для большой бутылки использованных реактивов будет направляться наружу. Реактивы кластерного картриджа всегда направляются в малую бутылку использованных реактивов.

Системное программное обеспечение

Пакет программного обеспечения прибора включает в себя встроенные приложения, которые выполняют циклы 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 цикла NVCS воспроизводит обучающие видеоролики.
- ▶ **Программа анализа в реальном времени (RTA)** — выполняет анализ изображений и распознавание нуклеотидных оснований во время цикла. В NovaSeq 6000 используется RTA3, содержащая улучшения в архитектуре, безопасности и других функциях, направленные на оптимизацию производительности. Дополнительную информацию см. в разделе *«Анализ в режиме реального времени»* на стр. 78.
- ▶ **Служба универсального копирования (UCS)** — копирует выходные файлы из RTA3 и NVCS в папку выходных данных на протяжении цикла. Если соответствующая функция предусмотрена, служба также передает данные в BaseSpace Sequence Hub. Если служба универсального копирования прервана во время цикла, служба будет предпринимать многократные попытки восстановления связи и автоматического возобновления передачи данных.





Значки состояния

Значок состояния на панели интерфейса программного обеспечения NVCS указывает на состояние цикла. Цифра на значке указывает на количество состояний в статусе.

Когда статус цикла меняется, значок начинает мигать, чтобы предупредить пользователя.

Выберите значок для просмотра описания состояния. Выберите опцию **Acknowledge** (Подтвердить) для сброса сообщения, а затем выберите опцию **Close** (Закреть), чтобы закрыть диалоговое окно.

Таблица 2. Значки состояния NVCS



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





Управление процессом

Экран Process Management (Управление процессом) обеспечивает доступ к вычислительному ядру (CE) и жесткому диску (C:\). Этот экран используется для отслеживания хода выполнения цикла, удаления циклов и иных действий по управлению дисковым пространством. Не удаляйте файлы и папки с диска C:\ напрямую.

Экран Process Management (Управление процессом) отображает доступное дисковое пространство, пространство, использованное на CE и C:\, а также состояние циклов в отношении использования дискового пространства. Столбцы Run Date (Дата цикла) и Name (Название) позволяют идентифицировать каждый цикл. Столбцы Run Status (Статус цикла), BaseSpace и Network (Сеть) показывают статус каждого из процессов в цикле.

Таблица 3. Значки статуса управления процессом

Процесс	Пиктограмма	Описание
Run Status (Статус цикла)	 Running	Цикл выполняется.
	 Complete	В цикле завершено секвенирование.

Процесс	Пиктограмма	Описание
Network (Сеть)	 Copying	Файлы копируются в папку выходных данных в сетевом расположении.
	 Complete	Все файлы скопированы в папку выходных данных в сетевом расположении.
	N/A	Неприменимо, поскольку цикл 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 «Управление процессом: поиск и устранение неисправностей» на стр. 74.
BaseSpace	 Uploading	Файлы загружаются в BaseSpace Sequence Hub.
	 Complete	Все файлы загружены в BaseSpace Sequence Hub.
	N/A	Неприменимо, поскольку цикл не сконфигурирован таким образом, чтобы файлы копировались в BaseSpace Sequence Hub, или же статус копирования файлов неизвестен. Для поиска и устранения неисправностей см. раздел «Управление процессом: поиск и устранение неисправностей» на стр. 74.

Для запуска цикла с проточной кюветой необходимо обеспечить выполнение требований по минимальному объему свободного дискового пространства на SE и C:\.



ПРИМЕЧАНИЕ

Для циклов секвенирования с одной проточной кюветой минимальные требования к объему составляют половину от указанной в следующей таблице.

Таблица 4. Минимальный объем свободного дискового пространства на SE и C:\ для циклов секвенирования с двумя проточными кюветами

Проточная кювета	Объем SE на цикл	Объем C:\ на пару проточных кювет
SP	0,5 ГБ	5 ГБ
S1	1,35 ГБ	20 ГБ
S2	2,7 ГБ	20 ГБ
S4	4,3 ГБ	40 ГБ

Для вычисления общего требуемого объема на SE для цикла секвенирования необходимо умножить значение в поле «Объем SE на цикл» на сумму значений длин считывания 1, считывания 2, индекса 1 и индекса 2 (см. «Ввод параметров цикла» на стр. 60). Например, для секвенирования 150 циклов с парными концевыми фрагментами, с двумя проточными кюветами S4, с индексами длиной 8 оснований, требуемый объем на SE составляет $(151 * 2 + 8 * 2) * 4,3 = 1,37$ ТБ.

О том, как очистить дисковое пространство, см. раздел «Удаление цикла» на стр. 65.

Глава 2. Комплекты и принадлежности

Обзор комплектов	12
Компоненты комплекта реактива	13
Компоненты комплекта NovaSeq Xp	17
Станция проточной кюветы NovaSeq Xp	18
Описание символов	19

Обзор комплектов

Выполнение цикла на системе NovaSeq 6000 требует использования комплекта реактива NovaSeq 6000. Рабочий процесс NovaSeq Xp также требует комплекта NovaSeq Xp. Такие комплекты поставляются в следующих конфигурациях.

Выберите размер комплекта, соответствующий дизайну вашего эксперимента. Компания Illumina рекомендует использовать комплекты, рассчитанные на 500 циклов, только для запусков, в которых предполагается более 300 циклов.

Полный список компонентов, необходимых для выполнения цикла, см. в главе *«Расходные материалы и оборудование, приобретаемые пользователем»* на стр. 28.

Таблица 5. Конфигурация комплекта





Наименование комплекта	Illumina, № по каталогу
Комплект реактивов NovaSeq 6000 S4 (300 циклов)	20012866
Комплект реактивов NovaSeq 6000 S4 (200 циклов)	20027466
Комплект реактивов NovaSeq 6000 S2 (300 циклов)	20012860
Комплект реактивов NovaSeq 6000 S2 (200 циклов)	20012861
Комплект реактивов NovaSeq 6000 S2 (100 циклов)	20012862
Комплект реактивов NovaSeq 6000 S1 (300 циклов)	20012863
Комплект реактивов NovaSeq 6000 S1 (200 циклов)	20012864
Комплект реактивов NovaSeq 6000 S1 (100 циклов)	20012865
Комплект реактивов NovaSeq 6000 SP (500 циклов)	20029137
Комплект реактивов NovaSeq 6000 SP (300 циклов)	20027465
Комплект реактивов NovaSeq 6000 SP (100 циклов)	20027464
Комплект NovaSeq Xp 2-Lane	20021664
Комплект NovaSeq Xp 4-Lane	20021665

Маркировка совместимости

Чтобы идентифицировать совместимые компоненты комплекта, проточные кюветы и картриджи, используются этикетки с символами, указывающими режим комплекта: **SP**, **S1**, **S2** или **S4**.

Коллекторы NovaSeq Xp поддерживают несколько режимов и маркируются как коллекторы с двумя дорожками (для проточных кювет SP, S1 и S2) или с четырьмя дорожками (для проточных кювет S4).

Компоненты с разными режимами нельзя использовать вместе в одном цикле секвенирования. Например, нельзя сочетать картриджи S1 и проточную кювету S2.

Режим комплекта	Отметка на бирке	Описание
Компоненты комплекта SP		Проточные кюветы SP обеспечивают получение от 650 до 800 миллионов одиночных считываний, проходящих фильтр, с выходом до 250 ГБ при 2 × 150 п. о. и до 400 ГБ при 2 × 250 п. о.
Компоненты комплекта S1		Проточные кюветы S1 обеспечивают получение до 1,6 миллиарда одиночных считываний, проходящих фильтр с выходом до 500 ГБ при 2 × 150 п. о. Комплект S1 позволяет выполнять быстрые секвенирования меньшего количества образцов для задач, требующих наибольшей производительности.
Компоненты комплекта S2		Проточные кюветы S2 обеспечивают получение до 4,1 миллиарда одиночных считываний, проходящих фильтр с выходом до 1250 ГБ при 2 × 150 п. о. Проточные кюветы S2 обеспечивают быстрое секвенирование для задач, требующих наибольшей производительности, при этом они обеспечивают большее число считываний, чем проточные кюветы S1, что обуславливает больший выход секвенирования.
Компоненты комплекта S4		Проточные кюветы S4 обеспечивают получение до 10 миллиардов одиночных считываний, проходящих фильтр с выходом до 3000 ГБ при 2 × 150 п. о. Это вариант проточной кюветы 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 Illumina на странице продукта [NovaSeq Reagent Kits](#).

Компоненты комплекта реактива

Каждый комплект реактивов NovaSeq 6000 содержит следующие компоненты. Каждый компонент имеет устройство радиочастотной идентификации (RFID) для точного отслеживания расходных материалов и совместимости.

Получив комплект, храните его компоненты при указанной температуре, чтобы обеспечить надлежащее функционирование.

Таблица 6. Компоненты комплекта

Количество	Компонент комплекта	Температура хранения
1	Пробирка с библиотекой	От 15 до 30 °C
1	Проточная кювета	От 2 до 8 °C
1	Картридж с буфером	От 15 до 30 °C
1	Картридж кластера	От –25 до –15 °C
1	Картридж SBS	От –25 до –15 °C



ОСТОРОЖНО!

Избегайте падения картриджей. При падении картриджа можно получить травму. При утечке реактивов из картриджа они могут вызвать раздражение кожи. Перед использованием осмотрите картриджи для выявления трещин.

Пробирка с библиотекой

Пробирка с библиотекой NovaSeq 6000 — это пробирка 16 мм, которая вставляется в положение № 8 кластерного картриджа. Положение № 8 снабжено биркой **Library Tube** (Пробирка с библиотекой) и обведено оранжевым цветом для лучшей идентификации. Пробирка снабжена крышкой с резьбой, позволяющей при необходимости поместить библиотеки на хранение. Перед загрузкой в кластерный картридж убедитесь, что крышка снята.

Рисунок 4. Пробирка с библиотекой



Пробирка с библиотекой используется двумя способами, в зависимости от рабочего процесса.

- ▶ **Стандартный** — объединенные и денатурированные библиотеки добавляют в пробирку библиотек, затем вставляют пробирку без крышки в кластерный картридж. После запуска цикла секвенирования прибор смешивает библиотеки с реагентами ExAmp в пробирке для библиотеки, а затем автоматически переносит смесь в проточную кювету.
- ▶ **NovaSeq Xp** — в кластерный картридж устанавливают пустую пробирку для библиотеки без крышки. Во время цикла секвенирования перед переносом в проточную кювету реагенты смешивают в пробирке для библиотеки.

Проточная кювета

Проточная кювета NovaSeq 6000 представляет собой структурированную проточную кювету, заключенную в картридж. Проточная кювета является субстратом на основе стекла, который содержит миллиарды нанолунок. Лунки, расположенные в определенном порядке, увеличивают количество считываний и данных секвенирования. В нанолунках генерируются кластеры, а затем проводится процесс секвенирования.

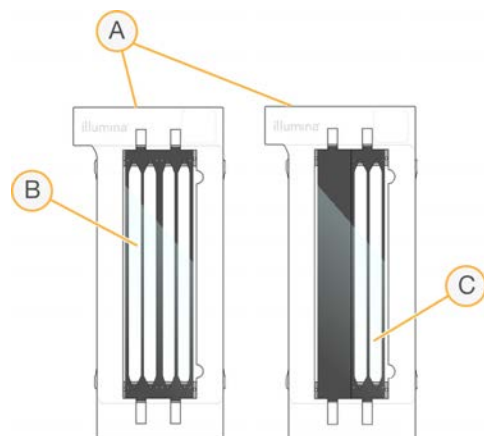
Каждая проточная кювета содержит несколько дорожек для секвенирования объединенных библиотек. Проточные кюветы SP, S1 и S2 имеют по две дорожки, а проточная кювета S4 имеет четыре дорожки. Каждая дорожка визуализируется набором полос, а затем программное обеспечение разделяет изображение каждой полосы на меньшие части, называемые плитками. Дополнительную информацию см. в разделе *«Плитки проточной кюветы»* на стр. 79.



ПРИМЕЧАНИЕ

При использовании проточной кюветы S1 убедитесь, что используется ПО NVCS версии 1.3.1 или более поздней версии. При использовании проточной кюветы SP убедитесь, что используется ПО NVCS версии 1.6 или более поздней версии.

Рисунок 5. Проточные кюветы



- A Картридж проточной кюветы.
- B Проточная кювета с четырьмя дорожками (S4).
- C Проточная кювета с двумя дорожками (SP, S1 и S2).

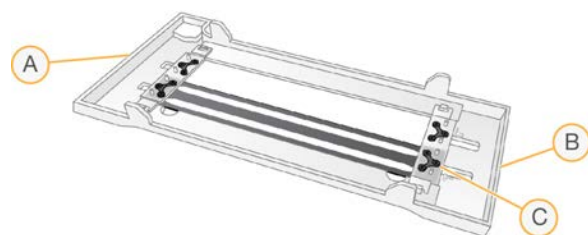
На нижней стороне каждой проточной кюветы имеются четыре прокладки. Библиотеки и реактивы подаются на дорожки проточной кюветы через прокладки на входном конце проточной кюветы. И использованные реактивы удаляются из дорожек через прокладки на выходном конце.



ПРИМЕЧАНИЕ

Не касайтесь прокладок при работе с проточной кюветой.

Рисунок 6. Перевернутая проточная кювета



- A Выходной конец.
- B Входной конец.
- C Прокладка (одна из четырех).



Картриджи буферных растворов, кластеризации и SBS

Картриджи с буферными растворами, с растворами для кластеризации и с SBS для систем NovaSeq 6000 имеют запечатанные фольгой резервуары, предварительно наполненные реактивами, буферными и промывочными растворами. В каждый комплект реактивов включено по одному картриджу каждого типа.

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

На этикетке картриджа указываются поддерживаемые режимы, например S1/S2 или SP/S1/S2. Картриджи можно использовать только в тех режимах, которые указаны на этикетке.

Таблица 7. Картриджи с реактивами

Картридж	Описание
<p>Картридж с буфером NovaSeq 6000</p> 	<p>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.</p>
<p>Картридж с растворами для кластеризации NovaSeq 6000</p> 	<p>Заранее заполнен реактивами для кластеризации, индексирования и секвенирования с парными концевыми фрагментами, а также содержит промывочный раствор. Имеет отмеченное положение для размещения пробирки для библиотеки. Оранжевая бирка отличает картридж кластера от картриджа SBS.</p>
<p>Картридж с раствором SBS NovaSeq 6000</p> 	<p>Заранее заполнен реактивами для секвенирования в объемах, характерных для количества циклов, поддерживаемых комплектом (500, 300, 200 или 100). Каждое из трех положений реактивов имеет зарезервированное для автоматической промывки после цикла соседнее положение. От картриджа кластера картридж SBS отличается биркой серого цвета.</p>

Резервуары картриджа кластера

Съемный резервуар

Реактив для денатурирования в положении № 30 содержит формамид — органический амид, токсичный для репродуктивной системы. Для безопасной утилизации неиспользованного реактива после цикла секвенирования эту емкость можно снять.



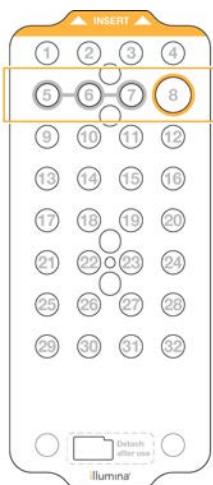
ПРИМЕЧАНИЕ

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 с библиотекой. С целью прослеживания образцов пробирка с библиотекой загружается в картридж кластера во время настройки цикла и остается в картридже до окончания цикла.

Рисунок 7. Пронумерованные емкости



Положение	Для чего зарезервировано
5, 6 и 7	Дополнительные пользовательские праймеры
8	Пробирка с библиотекой

Дополнительно о пользовательских праймерах см. в разделе «Руководство по пользовательским праймерам для серии NovaSeq» (документ № 1000000022266).

Компоненты комплекта NovaSeq Xp

Каждый комплект NovaSeq Xp, предназначенный для одноразового применения, содержит следующие компоненты. Получив комплект, храните его компоненты при указанной температуре, чтобы обеспечить надлежащее функционирование.

Таблица 8. Компоненты комплекта NovaSeq Xp

Количество	Компонент комплекта	Температура хранения
1	DPX1	От -25 до -15 °C
1	DPX2	От -25 до -15 °C
1	DPX3	От -25 до -15 °C
1	Коллектор NovaSeq Xp	Оставьте в комплекте или храните при комнатной температуре

Реактивы DPX1, DPX2 и DPX3

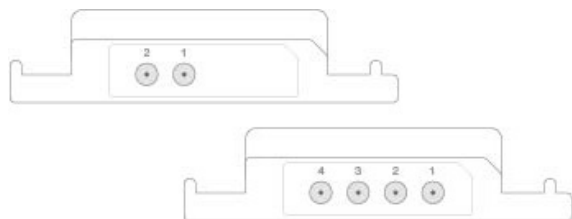
Реактивы DPX1, DPX2 и DPX3 это реактивы ExAmp, поставляемые в отдельных пробирках и используемые в рабочем процессе NovaSeq Xp. При смешивании этих реактивов образуется смесь ExAmp master mix, которую смешивают с пулами библиотек перед загрузкой в проточную кювету.

Коллектор NovaSeq Xp

Коллектор NovaSeq Xp устанавливают на станцию проточной кюветы NovaSeq Xp для получения возможности прямой загрузки пулов библиотек в отдельные дорожки проточной кюветы. Опоры, расположенные на обеих сторонах коллектора NovaSeq Xp, разработаны для облегчения его установки на станцию.

Коллекторы NovaSeq Xp поставляются в конфигурациях для двух дорожек и четырех дорожек, они соответствуют проточным кюветам с двумя дорожками и четырьмя дорожками. Каждая лунка соответствует дорожке проточной кюветы. Поскольку проточная кювета загружается на станцию NovaSeq Xp в перевернутом виде, лунки пронумерованы справа налево для соответствия нумерации дорожек на перевернутой проточной кювете.

Рисунок 8. Коллекторы NovaSeq Xp с пронумерованными лунками

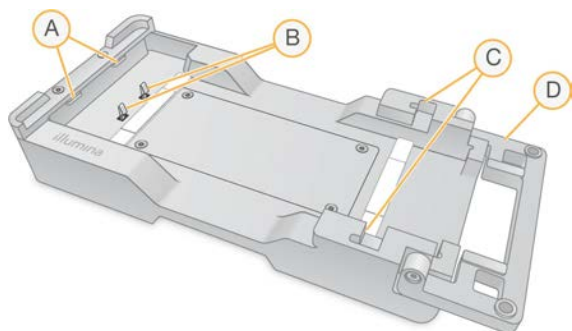


Станция проточной кюветы NovaSeq Xp

Станция проточной кюветы NovaSeq Xp представляет собой принадлежность многоразового использования для загрузки библиотек непосредственно в проточную кювету. Проточную кювету переворачивают и устанавливают на станции, после чего к проточной кювете прикрепляют коллектор NovaSeq Xp.

Процесс вставки проточной кюветы упрощается за счет наличия двух выступов (под фиксатором) и двух пружин, гарантирующих правильную ориентацию проточной кюветы. Вырезы удерживают опоры коллектора NovaSeq Xp в правильном положении и помогают ровному его опусканию. Для фиксации коллектора NovaSeq Xp на проточной кювете используется магнитный зажим, поворачивающийся на 180°.









Рисунок 9. Станция проточной кюветы NovaSeq Xp





- A Выступы (под фиксатором), направляющие кювету при загрузке.
- B Пружины, выравнивающие проточную кювету.
- C Вырезы для удерживания опор коллектора NovaSeq Xp.
- D Зажим для взаимной фиксации проточной кюветы и коллектора NovaSeq Xp.

Описание символов

В таблице ниже описаны символы, помещаемые на расходные материалы или на упаковку расходных материалов.

Символ	Описание
	Срок годности расходного материала. Для получения оптимальных результатов расходные материалы должны быть использованы до указанной даты.
	Указывает производителя (Illumina).
	Назначение — только для исследовательских целей (RUO).
	Обозначает номер детали, чтобы можно было идентифицировать расходный материал ¹ .
	Обозначает код партии, чтобы можно было идентифицировать партию или серию, в которой был изготовлен тот или иной расходный материал ¹ .
	Обозначает серийный номер.
	Обозначает необходимость защиты от действия света или тепла. Беречь от прямых солнечных лучей.
	Обозначает опасность для здоровья.

Символ	Описание
	Обозначает предупреждение об опасности.
	Диапазон температур хранения в градусах Цельсия. Храните расходные материалы при температурах в пределах указанного диапазона ² .

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

² Температурные условия при хранении и транспортировке могут отличаться.

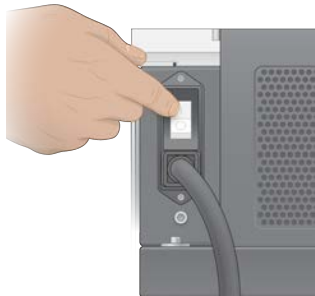
Глава 3. Начало работы

Запуск прибора	21
Настройки конфигурации	22
Расходные материалы и оборудование, приобретаемые пользователем	28

Запуск прибора

- 1 Переведите переключатель питания в задней части прибора в положение | ВКЛ.

Рисунок 10. Местоположение переключателя питания



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

Рисунок 11. Местоположение кнопки питания



Учетные записи пользователей

В ПО NVCS версии 1.5 и более новых версиях существует два типа учетных записей: администратор и пользователь. Права для каждого типа учетной записи показаны в следующей таблице.

Права	Администратор	Пользователь
Настройка, запуск, мониторинг циклов секвенирования	X	X
Загрузка и обновление программного обеспечения	X	
Просмотр статуса активного цикла, запущенного другим пользователем	X	

Права	Администратор	Пользователь
Завершение не отвечающего на запросы процесса UCS (Служба универсального копирования)	X	

Файлы с данными приложения хранятся в каталоге `C:/ProgramData`. Приложения устанавливаются в каталоге `C:/Program Files`. ПО NVCS запускается как полноэкранное приложение для обоих типов учетной записи.

Вход в систему

- 1 Когда операционная система загрузится, войдите в Windows с помощью имени пользователя и пароля учреждения.
- 2 Откройте ПО NVCS.
Программное обеспечение запускается и инициализирует систему. Когда инициализация будет завершена, появится главная страница.

ПО NVCS запускается как пользовательское приложение. Если при попытке использовать функцию, для которой требуются права администратора, например функцию обновления программного обеспечения, пользователь не вошел в систему как администратор, потребуется выполнить вход в систему как администратор.

Чтобы получать информацию о ходе выполнения цикла секвенирования, необходимо оставаться в системе на время работы ПО NVCS и выполнения цикла секвенирования.

Настройки конфигурации

Программное обеспечение NVCS включает настройки для следующих элементов:

- ▶ режим цикла секвенирования (ручной или на основе файла);
- ▶ рабочий процесс NovaSeq Xp;
- ▶ BaseSpace Sequence Hub;
- ▶ обновление программного обеспечения.



ПРИМЕЧАНИЕ

Перед конфигурированием выбора рабочего процесса или автоматических проверок обновлений программного обеспечения убедитесь, что сконфигурирован выбор режима.

Режимы настройки цикла

- ▶ **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) — это альтернативный режим, в котором для определения параметров цикла используются файлы из BaseSpace Clarity LIMS или иной системы LIMS. Дополнительную информацию см. в разделе *«Конфигурирование выходных данных LIMS»* на стр. 24.

При конфигурировании режима настройки цикла обязательно укажите существующее место расположения папки настройки цикла. Указывать эту папку обязательно; если система сообщает о недействительности места, значит, указанное место расположения не существует.

В обоих вариантах настройки работы предусмотрен вариант отправки данных для анализа в BaseSpace Sequence Hub.

Настройка ручного режима

- 1 В основном меню выберите пункт **Settings** (Настройки).
Откроется вкладка Mode Selection (Выбор режима) экрана Settings (Настройки).
- 2 Выберите **Manual** (Ручной).
- 3 **[Дополнительно.]** Введите или укажите желаемое сетевое расположение для папки выходных данных.
Не определяйте место на дисках C:\, D:\ или Z:\. При такой настройке будет получена ошибка недействительного диска.
Эта настройка представляет собой место расположения по умолчанию. Место расположения файлов выходных данных можно изменять для каждого цикла.
- 4 **[Дополнительно.]** Выберите **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Отправить данные производительности прибора в компанию 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 на предприятие Illumina будут отправляться данные о производительности прибора. Эти данные помогают предприятию Illumina в поиске и устранении неисправностей и в распознавании потенциальных сбоев, позволяя выполнять профилактическое техническое обслуживание и увеличивать продолжительность работоспособности прибора. Дополнительную информацию о пользе такого обслуживания см. в документе «*Техническая записка компании Illumina о профилактическом обслуживании (Illumina Proactive Technical Note)*» (документ №1000000052503)
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 производительности прибора предприятию Illumina).
- 5 Выберите **Save** (Сохранить).

Настройка режима с использованием файлов

- 1 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 укажите желаемое сетевое расположение для папки настройки цикла, в котором находятся файлы LIMS .
Удостоверьтесь в том, что нужные файлы LIMS добавлены в папку настроек цикла до того, как вы приступите к его настройке. Во время настройки цикла программное обеспечение использует идентификационный номер пробирки с библиотекой или идентификационный номер проточной кюветы, чтобы определить местоположение файлов для текущего цикла.
- 4 **[Дополнительно.]** Введите или укажите желаемое сетевое расположение для папки выходных данных.

Не определяйте место на дисках C:\, D:\ или Z:\. При такой настройке будет получена ошибка недействительного диска.

Место расположения файлов выходных данных можно изменять для каждого цикла.

- 5 **[Дополнительно.]** Выберите **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Отправить данные производительности прибора в компанию 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 на предприятие Illumina будут отправляться данные о производительности прибора. Эти данные помогают предприятию Illumina в поиске и устранении неисправностей и в распознавании потенциальных сбоев, позволяя выполнять профилактическое техническое обслуживание и увеличивать продолжительность работоспособности прибора. Дополнительную информацию о пользе такого обслуживания см. в документе «*Техническая записка компании Illumina о профилактическом обслуживании (Illumina Proactive Technical Note)*» (документ №1000000052503)

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 производительности прибора предприятию Illumina).

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

- 6 Выберите **Save** (Сохранить).

Конфигурирование выходных данных LIMS

Если ваша система сконфигурирована для работы с файлами и вы используете ПО LIMS, отличное от BaseSpace Clarity LIMS, сконфигурируйте LIMS так, чтобы она создавала файл настройки цикла в формате *.json. Для стандартного рабочего процесса имя файла должно соответствовать идентификационному номеру пробирки с библиотекой. Поле идентификационного номера проточной кюветы в файле можно оставить незаполненным. Для рабочего процесса NovaSeq Xr имя файла должно соответствовать идентификатору проточной кюветы, в файле должны быть указаны как идентификатор проточной кюветы, так и идентификатор пробирки с библиотекой. Имя файла и значения нечувствительны к регистру.

Внешнее программное обеспечение LIMS может использовать интерфейс прикладных программ (API) NovaSeq LIMS для взаимодействия с NovaSeq 6000. Для получения дополнительной информации о конечных точках API обратитесь в службу технической поддержки Illumina.

Название поля	Значение
run_name	Предпочтительное название цикла, которое может содержать буквенно-цифровые символы, дефисы и подчеркивания
run_mode	Один из следующих режимов <ul style="list-style-type: none"> • SP • S1 • S2 • S4
workflow_type	NoIndex, SingleIndex или DualIndex
librarytube_ID	Метка RFID на пробирке с библиотекой

Название поля	Значение
rehyb *	True (Истина) или False (Ложь)
sample_loading_type	NovaSeqStandard или NovaSeqXp
Flowcell_ID	Идентификационный номер проточной кюветы
paired_end	True (Истина) или False (Ложь)
read1	Значение вплоть до 251
read2	Значение вплоть до 251
index_read1	Любое значение
index_read2	Любое значение
output_folder	Путь к файлу выходных данных с двумя обратными косыми чертами для последовательности выхода
samplesheet	Путь к протоколу анализов или иному файлу в формате *.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)

* Регибридизация не доступна в ПО NVCS версии 1.4.0 или более ранних версиях.

Пример — файл *.json с названием H6655DMXX.json:

```
{
  "run_name": "2x151_PhiX",
  "run_mode": "S2",
  "workflow_type": "NoIndex",
  "sample_loading_type": "NovaSeqXp",
  "librarytube_ID": "NV1236655-LIB", "flowcell_ID": "H6655DMXX",
  "rehyb": false,
  "paired_end": true,
  "read1": 151,
  "read2": 151,
  "index_read1": 0,
  "index_read2": 0,
  "output_folder": "\\sgnt-prd-isi01\\NovaSEQ\\SeqRuns",
  "attachment": "\\sgnt-prd-isi01\\NVSQ\\SampleSheet.csv",
  "use_basespace": false,
  "basespace_mode": null,
  "use_custom_read1_primer": false,
  "use_custom_read2_primer": false,
  "use_custom_index_read1_primer": false
}
```

Конфигурирование индексных циклов по умолчанию

Вы можете сконфигурировать принятое по умолчанию количество индексных циклов считывания для стандартного рабочего процесса следующим образом.

- 1 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 задаваемое по умолчанию количество индексных циклов считывания в текстовом поле **Index Cycles** (Индексные циклы).
- 4 Выберите **Save** (Сохранить).

Стандартный рабочий процесс NovaSeq и рабочий процесс NovaSeq Xp

В стандартном рабочем процессе NovaSeq и рабочем процессе NovaSeq Xp используются запатентованные Illumina реактивы ExAmp.

▶ Стандартный рабочий процесс.

Стандартный рабочий процесс NovaSeq позволяет автоматизировать выполнение в приборе двух критических этапов подготовки кластеров с помощью запатентованных Illumina реактивов ExAmp:

- ▶ подготовка смеси ExAmp Master Mix;
- ▶ перенос смеси Master Mix в проточную кювету.

Подготовка и перенос смеси Master Mix в системе минимизирует необходимость вмешательства пользователя и уменьшает вариабельность при подготовке смеси.

В процессе настройки цикла для стандартного рабочего процесса пробирку для библиотеки, содержащую пул денатурированной и нейтрализованной библиотеки в рекомендованной концентрации, вставляют в положение № 8 кластерного картриджа. После запуска цикла последующие этапы проходят в приборе и не требуют вмешательства пользователя. В это время производится перенос реактивов ExAmp из кластерного картриджа в пробирку с библиотекой, подготовка смеси реактивов и пула библиотеки и перенос подготовленной смеси на все дорожки проточной кюветы.

После кластеризации в системе выполняется серия этапов, общих для обоих рабочих процессов. Эти этапы включают внесение кондиционирующей смеси в кластеризованную проточную кювету и дополнительные этапы химических реакций, проводимых для подготовки кластеров к секвенированию методом синтеза. Кондиционирующая смесь приготавливается во время процесса кластеризации с использованием реактивов в кластерном картридже и в пробирке с библиотекой, вставленной во время настройки цикла. Кондиционирующая смесь способствует увеличению эффективности кластеризации на приборе NovaSeq.

▶ Рабочий процесс NovaSeq Xp.

Рабочий процесс NovaSeq Xp позволяет загружать различные библиотеки или пулы библиотек на отдельные дорожки проточной кюветы NovaSeq, используя станцию проточной кюветы NovaSeq Xp и комплект расходных материалов для конкретного типа проточной кюветы (комплект NovaSeq Xp 2-Lane или комплект NovaSeq Xp 4-Lane). Комплект NovaSeq Xp содержит реактивы ExAmp, необходимые для кластеризации, и коллектор NovaSeq Xp, используемый для загрузки дорожек.

Смесь реактивов ExAmp и библиотеки приготавливают и загружают на конкретную дорожку проточной кюветы с помощью станции проточной кюветы NovaSeq Xp и коллектора NovaSeq Xp. Для приготовления смеси реактивов ExAmp и библиотеки и переноса их в коллектор для самозаполнения проточной кюветы можно использовать автоматический манипулятор для

работы с жидкостями. Когда загрузка образца в проточную кювету будет завершена, пустую пробирку с библиотекой устанавливают в положение № 8 кластерного картриджа, проточную кювету устанавливают в прибор и запускают цикл секвенирования.

После запуска цикла в системе выполняется серия этапов, общих для обоих рабочих процессов. Эти этапы включают внесение кондиционирующей смеси в кластеризованную проточную кювету и дополнительные этапы химических реакций, проводимых для подготовки кластеров к секвенированию методом синтеза. Кондиционирующая смесь приготавливается во время процесса кластеризации с использованием реактивов в кластерном картридже и смешивается в пустой пробирке с библиотекой, вставленной во время настройки цикла. Кондиционирующая смесь способствует увеличению эффективности кластеризации на приборе NovaSeq.

Конфигурирование рабочего процесса NovaSeq Xp

- 1 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 возможность использования рабочего процесса NovaSeq Xp, выберите **Enable Workflow Selection** (Разрешить выбор рабочего процесса).
- 4 [Дополнительно.] Чтобы сделать NovaSeq Xp рабочим процессом по умолчанию, выберите **NovaSeq Xp**.
- 5 Выберите **Save** (Сохранить).

Настройка BaseSpace Sequence Hub

Представленные далее инструкции позволяют выполнить конфигурирование настройки по умолчанию BaseSpace Sequence Hub. Во время настройки цикла пользователь может отключить BaseSpace Sequence Hub для текущего цикла или изменить настройки отслеживания и хранения цикла. Для того чтобы установить связь с BaseSpace Sequence Hub, требуется интернет-подключение.

- 1 В основном меню выберите пункт **Settings** (Настройки).
Откроется вкладка Mode Selection (Выбор режима) экрана Settings (Настройки).
- 2 Установите флажок **BaseSpace Sequence Hub**.
- 3 Выберите вариант конфигурации.
 - ▶ **Run Monitoring and Storage** (Отслеживание и хранение цикла) — отправка данных цикла секвенирования в BaseSpace Sequence Hub для дистанционного мониторинга и анализа данных. При выполнении этой опции в ходе цикла выгружается протокол анализа.
 - ▶ **Run Monitoring Only** (Только отслеживание цикла) — отправка файлов InterOp, журнала и других файлов цикла не-CBCL в BaseSpace Sequence Hub для дистанционного мониторинга циклов.
- 4 В раскрывающемся меню Hosting Location (Место расположения серверов) выберите **EU (Frankfurt)** (ЕС [Франкфурт]) или **USA (N. Virginia)** (США [С. Виргиния]).
Эта настройка определяет, куда будут выгружаться данные.

- 5 Для подписчиков BaseSpace Enterprise:
 - a установите флажок **Private Domain** (Частный домен);
 - b введите используемое имя домена для однократного входа в BaseSpace Sequence Hub.
- 6 Выберите **Save** (Сохранить).

Название протокола анализа

При использовании программного обеспечения NVCS версии 1.3.1 или более ранней версии для цикла NovaSeq 6000 протокол анализа, который используется для цикла и выгружается в BaseSpace Sequence Hub должен иметь название SampleSheet.csv (с учетом регистра символов). Если протокол анализа назван неправильно, то при включенных опциях мониторинга цикла и сохранения BaseSpace Sequence Hub пометит данный цикл и выдаст предупреждение. Такой цикл с пометкой может быть поставлен в очередь на генерирование FASTQ при выборе опций **More | Fix Sample Sheet and Requeue** (Еще | Исправить протокол анализа и повторить запрос на очередь), после чего нужно будет ввести правильное название протокола анализов. Пока не будет протокола анализов, данные секвенирования нельзя будет преобразовать в файлы FASTQ.

Если вы используете ПО NVCS версии 1.4 или более позднюю версию, то у вас отсутствуют ограничения на название протокола анализа.

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

Конфигурирование 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 опцию **Software Update** (Обновление программного обеспечения).
- 3 Установите флажок **If enabled, the instrument will display a notification when a Software Update is available** (Если функция включена, прибор отобразит оповещение при появлении обновления программного обеспечения).
- 4 Выберите **Save** (Сохранить).

Расходные материалы и оборудование, приобретаемые пользователем

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

Расходные материалы

Расходный материал	Поставщик	Цель
1 N NaOH	Основной поставщик лаборатории	Разбавление до 0,2 N для денатурирования библиотек.
10 mM трис-HCl, pH 8,5	Основной поставщик лаборатории	Разбавление библиотек и дополнительного контроля PhiX после денатурирования.
400 mM трис-HCl, pH 8,0	Основной поставщик лаборатории	Нейтрализация библиотек и дополнительного (при необходимости) контроля PhiX после денатурирования.
Бутыль для центрифуги, 500 мл	Основной поставщик лаборатории	Разбавление препарата Tween 20 для профилактической промывки.
Центрифужная пробирка, 30 мл	Основной поставщик лаборатории	Разбавление NaOCl для профилактической промывки.
Одноразовые перчатки, неопудренные	Основной поставщик лаборатории	Общего назначения.
Спиртовые салфетки, 70-процентный изопропиловый спирт или спиртовые салфетки, 70-процентный этиловый спирт	VWR, № по каталогу 95041-714 или эквивалент Основной поставщик лаборатории	Компоненты, используемые при очистке перед циклом и с общими целями.
Низковорсные лабораторные салфетки	VWR, № по каталогу 21905-026 или эквивалент	Протирание насухо площадки проточной кюветы и любое другое протирание.
Пробирка для микроцентрифуги, 1,5 мл	VWR, № по каталогу 20170-038 или эквивалент	Объединение объемов NaOH и библиотеки в процессе разбавления.
NaOCl, 5 %	Sigma-Aldrich, № по каталогу 239305	Выполнение профилактической промывки.
Комплект реактивов NovaSeq 6000	Illumina, номера по каталогу см. в главе «Обзор комплектов» на стр. 12	Выполнение цикла секвенирования.
Наконечники пипеток, 20 мкл	Основной поставщик лаборатории	Пипетирование для разбавления и загрузки библиотек.
Наконечники пипеток, 200 мкл	Основной поставщик лаборатории	Пипетирование для разбавления и загрузки библиотек.
Наконечники пипеток, 1000 мкл	Основной поставщик лаборатории	Пипетирование для разбавления и загрузки библиотек.
Изопропиловый спирт (99 %), чистый для анализа или для спектрофотометрического анализа, бутыль 100 мл	Основной поставщик лаборатории	Периодическая оценка оптических компонентов и обслуживание картриджа для очистки объектива.
Tween 20	Sigma-Aldrich, № по каталогу P7949	Выполнение профилактической промывки.
Вода лабораторного класса	Основной поставщик лаборатории	Разбавление NaOH для денатурирования библиотек. Разбавление препарата Tween 20 и гипохлорита натрия для профилактической промывки.

Расходный материал	Поставщик	Цель
[Рабочий процесс NovaSeq Xp.] Один из следующих комплектов <ul style="list-style-type: none"> Комплект NovaSeq Xp 2-Lane Комплект NovaSeq Xp 4-Lane 	Illumina: <ul style="list-style-type: none"> № по каталогу 20021664 № по каталогу 20021665 	Ручная загрузка библиотек в проточную кювету: <ul style="list-style-type: none"> комплект для двух дорожек при использовании проточных кювет SP, S1 и S2; комплект для четырех дорожек при использовании проточных кювет S4.
[Рабочий процесс NovaSeq Xp.] Пробирки 0,5 мл и 1,7 мл	Основной поставщик лаборатории	Требуются для смешивания ExAmp.
[Рабочий процесс NovaSeq Xp.] [Дополнительно.] Один из следующих блоков коллектора <ul style="list-style-type: none"> Блок коллектора NovaSeq Xp 2-Lane Блок коллектора NovaSeq Xp 4-Lane 	Illumina: <ul style="list-style-type: none"> № по каталогу 20021666 № по каталогу 20021667 	Запасные коллекторы NovaSeq Xp для ручной загрузки библиотек в проточную кювету.
[Дополнительно.] PhiX Control v3	Illumina (№ по каталогу FC-110-3001)	Обогащение в контроле PhiX.

Расходные материалы в комплектах Illumina

Для секвенирования одной проточной кюветы используется один комплект реактива NovaSeq 6000. Каждый комплект содержит несколько видов расходных материалов, перечисленных в следующей таблице. Для циклов с двумя проточными кюветами используется два комплекта.

Таблица 9. Расходные материалы в комплекте реактивов NovaSeq 6000

Расходный материал (по одному в каждом)	Цель
Картридж с буфером	Обеспечивает наличие буферных растворов, поддерживающих секвенирование в цикле.
Картридж кластера	Обеспечивает реактивы для кластеризации, индексирования и считывания парных концевых фрагментов в цикле.
Проточная кювета	В проточной кювете происходят реакции кластеризации и секвенирования.
Картридж SBS	Обеспечивает наличие реактивов, поддерживающих секвенирование в цикле.
Пробирка с библиотекой	Пустая пробирка, используемая для хранения объединенных и денатурированных библиотек (приобретаемая пользователем) или для подготовки кондиционирующей смеси, повышающей эффективность кластеризации при секвенировании.

При использовании рабочего процесса NovaSeq Xp для загрузки библиотек непосредственно в проточную кювету, каждый комплект реактивов следует дополнить комплектом NovaSeq Xp. Каждый комплект NovaSeq Xp содержит следующие расходные материалы.

Таблица 10. Расходные материалы в комплекте NovaSeq Xp

Расходный материал (по одному в каждом)	Цель
DPX1	Подготовка смеси ExAmp Master Mix.
DPX2	
DPX3	
Коллектор NovaSeq Xp	Загрузка библиотек в проточную кювету.

Указания в отношении воды лабораторного класса

При работе с прибором используйте только воду лабораторного класса или деионизированную воду. Запрещается использовать водопроводную воду. Разрешается использовать только воду следующих классов (или эквивалентного качества):

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

Оборудование

Позиция	Источник
Морозильная камера, от –25 до –15 °С	Основной поставщик лаборатории
Мерный цилиндр, 500 мл, стерильный	Основной поставщик лаборатории
Емкость для льда	Основной поставщик лаборатории
Пипетка, 20 мкл	Основной поставщик лаборатории
Пипетка, 200 мкл	Основной поставщик лаборатории
Пипетка, 1000 мкл	Основной поставщик лаборатории
Холодильник, от 2 до 8 °С	Основной поставщик лаборатории
Ванна для водяной бани *	Основной поставщик лаборатории
[Рабочий процесс NovaSeq Xp.] Станция проточной кюветы NovaSeq Xp	Illumina, № по каталогу 20021663

* Используйте ванну, в которой помещаются два картриджа с реактивами и обеспечивается соответствующий уровень воды. Например, (61 см × 91,4 см × 25,4 см) (24 дюйма × 36 дюймов × 10 дюймов).

Глава 4. Стандартный рабочий процесс: подготовка расходных материалов

Методы	32
Руководство по библиотекам	32
Размораживание картриджей SBS и кластерных картриджей	33
Слив из бутылей для использованных реактивов	34
Подготовка проточной кюветы	35
Объединение и денатурирование библиотек для секвенирования	35

Методы

Перед началом подготовки образцов или расходных материалов убедитесь, что версия ПО NVCS удовлетворяет минимальным требованиям к программному обеспечению, указанным в следующей таблице.

Таблица 11. Минимальные системные требования к программному обеспечению

Проточная кювета	Минимальная версия программного обеспечения
SP	1.6
S1	1.3.1
S2	Все
S4	1.2.0

- ▶ Убедитесь в наличии всего необходимого оборудования и расходных материалов. См. главу *«Расходные материалы и оборудование, приобретаемые пользователем»* на стр. 28.
- ▶ 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.
- ▶ Выполняйте инструкции в указанном порядке, используя указанные значения объемов, концентраций, температур и продолжительностей.
- ▶ Если в инструкции не указывается определенный момент остановки, переходите к следующим этапам незамедлительно.

Руководство по библиотекам

Все инструкции относятся к поддерживаемым методам подготовки библиотек и предполагают, что размер вставки типичен для приложений, поддерживаемых системой NovaSeq 6000.

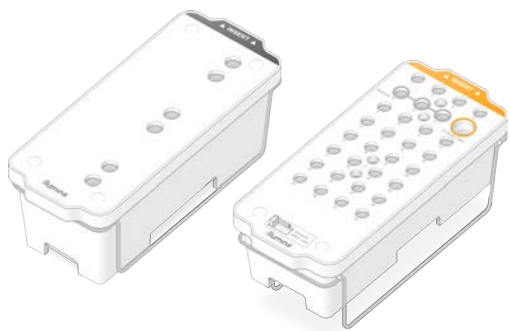
- ▶ Для получения лучших результатов формирование пула и денатурирование библиотек следует выполнять непосредственно перед секвенированием.
- ▶ Разбавьте библиотеку до загрузочной концентрации, соответствующей конкретному приложению. Слишком низкая или слишком высокая загрузочная концентрация отрицательно влияет на долю кластеров, проходящих через фильтр (%PF). При низкой концентрации библиотеки возрастает количество секвенируемых дубликатов. При избыточно высокой концентрации библиотеки уменьшается %PF.

- ▶ Для достижения оптимального значения %PF необходимы точная количественная оценка библиотеки и надлежащий контроль качества. Рекомендации приведены в документации к используемому комплекту для подготовки библиотек.

Размораживание картриджей SBS и кластерных картриджей

- 1 Если цикл секвенирования находится в процессе выполнения, убедитесь, что к моменту завершения размораживания будут доступны обе стороны прибора.
- 2 Извлеките картридж SBS и кластерный картридж из морозильной камеры с температурой от –25 до –15 °C.
- 3 Поместите каждый картридж в проволочную сетку для размораживания. Сетки поставляются с прибором, они призваны предотвратить 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.



ОСТОРОЖНО!

При использовании для размораживания реактивов горячей воды качество данных может снизиться или может произойти неудача цикла.

Картридж	Продолжительность размораживания
Картриджи SBS SP, S1 и S2	4 часа
Кластерные картриджи SP, S1 и S2	До 2 часов
Картридж SBS S4	4 часа
Кластерный картридж S4	До 4 часов

- 6 Вытрите основание картриджей бумажным полотенцем. Вытрите насухо пространство между лунками, удалив всю воду.
- 7 Осмотрите укупорку из фольги: она должна быть сухой. Если на фольге есть вода, промокните ее насухо безворсовой салфеткой.
- 8 Осмотрите нижнюю сторону каждого картриджа и удостоверьтесь, что там нет льда — это будет означать, что все реактивы полностью оттаяли.
- 9 Переверните каждый картридж 10 раз для перемешивания реактивов.

- 10 Осторожно постучите дном каждого картриджа по рабочему столу, чтобы выпустить и разбить воздушные пузырьки.
- 11 Если реактивы нельзя будет загрузить в прибор в течение 4 часов, их можно будет хранить при температуре от 2 до 8 °C в течение 24 часов.

Слив из бутылей для использованных реактивов

Бутыли с использованными реактивами необходимо опорожнять при **каждом** цикле секвенирования. При выполнении этого действия руководствуйтесь следующей инструкцией. Если система сконфигурирована для вывода использованных реактивов наружу, использованные реактивы будут собираться в малой бутылки, которая должна быть опустошена для каждого нового цикла секвенирования. Большая бутылка должна оставаться на месте.

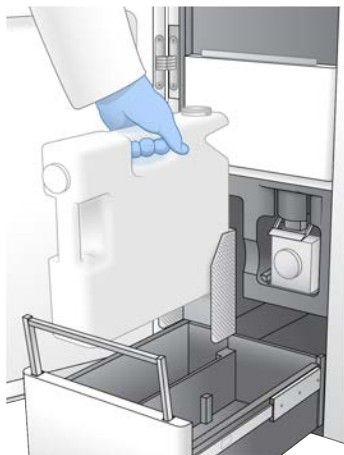


ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Этот комплект реактивов содержит потенциально опасные химические вещества. Существует опасность нанесения вреда здоровью при вдыхании, приеме внутрь, попадании на кожу или в глаза. Используйте соответствующие опасности средства индивидуальной защиты, включая защитные очки, перчатки и лабораторный халат. К использованным реактивам нужно относиться как к химическим отходам и утилизировать их в соответствии с действующими региональными, национальными и местными законодательными и нормативными актами. Подробную информацию об окружающей среде, охране здоровья и технике безопасности см. в паспорте безопасности на веб-сайте support.illumina.com/sds.html.

- 1 Извлеките и опорожните малую бутылку для использованных реактивов, как указано ниже.
 - a Поднимите рычаг и извлеките малую бутылку для использованных реактивов из углубления. Возьмите бутылку за бока.
 - b Снимите винтовой колпачок с держателя колпачка, расположенного в передней части бутылки.
 - c Закройте горлышко бутылки винтовым колпачком во избежание разливов.
 - d Не допускайте перемешивания содержимого бутылки с содержимым других бутылей для отходов, утилизируйте его в соответствии с действующими стандартами.
 - e Вновь установите бутылку без колпачка в углубление и опустите рычаг. Колпачок бутылки храните в держателе для колпачков.
- 2 Извлеките и опорожните большую бутылку для использованных реактивов, как указано ниже.
 - a При помощи верхнего рычага извлеките большую бутылку для использованных реактивов, расположенную слева в ящике для буферных растворов.
 - b Снимите винтовой колпачок с держателя колпачка, расположенного в передней части бутылки.
 - c Наденьте на горлышко бутылки винтовой колпачок во избежание разливов.
 - d Утилизируйте содержимое в соответствии с применимыми стандартами. При опорожнении сжимайте обе рукоятки.
 - e Верните бутылку без колпачка в ящик для буферных растворов. Колпачок бутылки храните в держателе для колпачков.

Рисунок 13. Возврат пустой бутылки



- 3 Наденьте новую пару неопудренных перчаток во избежание загрязнения поверхности прибора.
- 4 Закройте ящик буферного отсека и задвиньте дверцу отсека для жидкостей.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Если не выполнить опорожнение бутылей для использованных реактивов, цикл может быть прерван и может произойти переполнение, приводящее к повреждению прибора и создающее угрозу безопасности.

Подготовка проточной кюветы

- 1 Извлеките упаковку с новой проточной кюветой из места хранения с температурой от 2 до 8 °С.
- 2 Оставьте запечатанную упаковку проточной кюветы на 10–15 минут для прогрева проточной кюветы до комнатной температуры.
Используйте проточную кювету в течение 12 часов после извлечения ее из упаковки.

Объединение и денатурирование библиотек для секвенирования

Создание пула нормализованных библиотек

Воспользуйтесь следующими инструкциями для нормализации библиотек до необходимой концентрации, а затем объедините их. Библиотеки, секвенируемые в одной проточной кювете, должны быть объединены в один нормализованный пул.

- 1 Для получения сведений о типичном количестве считываний и рекомендованной плексности в зависимости от приложения и типа проточной кюветы см. следующую таблицу.

Таблица 12. Рекомендованная плексность пула библиотек

Приложение	Тип проточной кюветы	Количество проходящих фильтр считываний при секвенировании парными концевыми фрагментами на проточную кювету (В)	Количество библиотек на дорожку
Человеческие геномы	SP	1,3–1,6	~2
	S1	2,6–3,2	~4
	S2	6,6–8,2	~10
	S4	16–20	~24
Экзомы	SP	1,3–1,6	~20
	S1	2,6–3,2	~40
	S2	6,6–8,2	~100
	S4	16–20	~250
Транскриптомы	SP	1,3–1,6	~16
	S1	2,6–3,2	~32
	S2	6,6–8,2	~82
	S4	16–20	~200

Нормализация библиотек для их объединения

- 1 Определите требуемую концентрацию объединенных библиотек на основании желаемой окончательной загрузочной концентрации.

См. «[Рекомендуемые загрузочные концентрации](#)» на стр. 36.

Окончательная загрузочная концентрация (пМ)	Концентрация объединенных библиотек (нМ)
100	0,50
150	0,75
200	1
250	1,25
300	1,50
350	1,75
400	2
450	2,25
500	2,50

- 2 Нормализуйте библиотеки до желаемой концентрации объединенных библиотек при помощи трис-НСI буфера с рН 8,5 с концентрацией 10 мМ.

Полезные данные о разбавлении библиотек до необходимой концентрации см. в разделе [Pooling Calculator \(Калькулятор объединения библиотек\)](#) на веб-странице Illumina.

Рекомендуемые загрузочные концентрации

Оптимальная загрузочная концентрация ДНК зависит от типа библиотеки и размера вставки.

В таблице ниже приведены загрузочные концентрации ДНК, рекомендуемые в предположении о том, что библиотеки Illumina имеют размер вставки ≤ 450 п. о. При загрузке библиотек с меньшим

размером вставки используйте концентрации, близкие к нижнему диапазону рекомендованных значений. Если размеры вставок в библиотеках > 450 п. о., могут понадобиться более высокие загрузочные концентрации.



ПРИМЕЧАНИЕ

Для библиотек, изготовленных не рекомендованным Illumina методом, может потребоваться предварительное выполнение титрования для достижения оптимальной концентрации вносимого материала, при которой будет достигнут наибольший %PF. После определения оптимальной концентрации загрузки эта величина может применяться для всех последующих библиотек этого типа.

Таблица 13. Рекомендованные загрузочные концентрации для стандартного рабочего процесса (программное обеспечение версии 1.1 или более поздней версии)

Тип библиотеки	Окончательная загрузочная концентрация (пМ)	Загрузочная концентрация смешанных библиотек (нМ)
PhiX ¹	250	1,25
Пул библиотек с ДНК без ПЦР	175–350	0,875–1,75
Пул библиотек с ДНК с ПЦР-усилением	300–600	1,5–3,0
С одной проточной кюветой ²	250–500	1,25–2,5

¹ Для цикла только с применением PhiX.

² Использование одной проточной кюветы было подтверждено только для рабочего процесса Xp.

При наличии оптимизированной окончательной загрузочной концентрации для системы HiSeq™ X, HiSeq™ 4000 или HiSeq™ 3000, можно умножить ее на 1,5 и получить загрузочную концентрацию для системы NovaSeq 6000. Например, если окончательная загрузочная концентрация для HiSeq X составляет 200 пМ, для загрузки в систему NovaSeq 6000 используйте концентрацию 300 пМ.

Объединение нормализованных библиотек и добавление контрольного образца PhiX (дополнительно)

- 1 Объедините необходимые объемы каждой нормализованной библиотеки в новой микроцентрифужной пробирке до получения одного из следующих окончательных объемов.

Режим	Окончательный объем (мкл)
SP/S1	100
S2	150
S4	310

Например, в случае шестикратного объединения библиотек и режима S2 объедините по 25 мкл каждой из библиотек, нормализованных до одной и той же концентрации. Для четырехкратного объединения библиотек и режима S1 объедините по 25 мкл каждой из нормализованных неденатурированных библиотек.

- 2 **[Дополнительно.]** Храните оставшиеся количества **отдельных** библиотек при температуре от –25 до –15 °C.
- 3 **[Дополнительно.]** Добавьте 1-процентный раствор неденатурированного PhiX, как показано

ниже.

- a Разбавьте 10 нМ PhiX до концентрации 2,5 нМ с помощью буфера трис-HCl с pH 8,5 и концентрацией 10 мМ.
- b Добавьте необходимый объем неденатурированного 2,5 нМ PhiX в пробирку с объединенными неденатурированными библиотеками.

Режим	Неденатурированный 2,5 нМ PhiX (мкл)	Неденатурированный пул библиотек (мкл)
SP/S1	0,6	100
S2	0,9	150
S4	1,9	310

При обогащении PhiX уровень 1 % является рекомендованным количеством для сбалансированных библиотек. Для библиотек с малым разнообразием может потребоваться большее количество. Свяжитесь с отделом технической поддержки компании Illumina, чтобы получить рекомендации по тому, как использовать контрольную библиотеку PhiX в случае, если для рабочих библиотек характерно низкое разнообразие.

Подготовка свежего разбавленного раствора гидроксида натрия (NaOH)

Подготовьте **свежий** разбавленный раствор NaOH концентрацией 0,2 Н для секвенирования. Чтобы предотвратить влияние небольших ошибок дозирования на окончательную концентрацию NaOH, приготовьте раствор в избыточном объеме.



ОСТОРОЖНО!

Наличие свежеприготовленного NaOH концентрацией 0,2 Н является обязательным для процесса денатурирования. Неправильное денатурирование может снизить выход оснований.

- 1 Чтобы разбавить 1 Н NaOH до 0,2 Н, соедините в пробирке для микроцентрифуги следующие количества реактивов.

Таблица 14. Режим SP/S1/S2

Реактив	Объем для одной проточной кюветы (мкл)	Объем для двух проточных кювет (мкл)
Вода лабораторного класса	40	80
Основной раствор 1 Н NaOH	10	20

Сочетание этих объемов приведет к получению 50 мкл 0,2 Н раствора NaOH для одной проточной кюветы или 100 мкл 0,2 Н раствора NaOH для двух проточных кювет.

Таблица 15. Режим S4

Реактив	Объем для одной проточной кюветы (мкл)	Объем для двух проточных кювет (мкл)
Вода лабораторного класса	80	160
Основной раствор 1 Н NaOH	20	40

Сочетание этих объемов приведет к получению 100 мкл 0,2 Н раствора NaOH для одной проточной кюветы или 200 мкл 0,2 Н раствора NaOH для двух проточных кювет.

- 2 Переверните несколько раз или поместите на вортексную мешалку, чтобы тщательно перемешать. Закройте пробирку крышкой и используйте в течение следующих **12 часов**.

Денатурирование объединенных библиотек и добавление контрольного образца PhiX (дополнительно)

- 1 Добавьте 0,2 N NaOH в пробирку с неденатурированным пулом библиотек и PhiX (дополнительно), как указано ниже.

Проточная кювета	0,2 N NaOH	Неденатурированный пул библиотек (мкл)	Полученный объем
SP/S1	25	100	125 или 125,6 мкл при использовании PhiX
S2	37	150	187 или 187,9 мкл при использовании PhiX
S4	77	310	387 или 388,9 мкл при использовании PhiX

- 2 Закройте колпачком и быстро взболтайте.
- 3 Центрифугируйте при 280 × g на протяжении 1 минуты.
- 4 Инкубируйте при комнатной температуре в течение 8 минут для денатурирования.
- 5 Добавьте 400 mM раствор трис-HCl, pH 8,0 для нейтрализации, как указано ниже.

Режим	400 mM трис-HCl, pH 8,0 (мкл)	Полученный объем
SP/S1	25	150 или 150,6 мкл при использовании PhiX
S2	38	225 или 225,9 мкл при использовании PhiX
S4	78	465 или 466,9 мкл при использовании PhiX

- 6 Закройте колпачком и быстро взболтайте.
- 7 Центрифугируйте при 280 × g на протяжении 1 минуты.
- 8 Перенесите полный объем денатурированной библиотеки или денатурированной библиотеки и PhiX в пробирку для библиотеки, поставляемую с комплектом реактивов NovaSeq 6000.
- 9 Немедленно переходите к этапу загрузки пробирки с библиотекой в картридж кластера и приступайте к настройке цикла.
Картриджи с реактивами, включая пробирку с библиотекой, должны быть загружены в прибор в течение **30 минут**.
- 10 **[Дополнительно.]** Если обработка не выполняется сразу же, пробирку библиотеки можно закрыть крышкой и поместить на хранение при температуре от –25 до –15 °C сроком до 3 недель. После размораживания не замораживать повторно.



ОСТОРОЖНО!

Хранить пробирку с библиотекой следует только в случае крайней необходимости. Долгосрочное хранение при температуре от –25 до –15 °C может стать причиной увеличения дубликатов и уменьшения выхода.

Подготовка картриджей SBS и кластерных картриджей

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

Загрузка пробирки с библиотекой

- 1 Не встряхивая библиотеки, собранные в нижней части, вставьте пробирку с библиотеками без колпачка в положение **Library Tube** (Пробирка с библиотекой) № 8 кластерного картриджа.

Рисунок 14. Пробирка с библиотекой без крышки загружена в положение № 8



Глава 5. Рабочий процесс NovaSeq Xr: подготовка расходных материалов

Резюме рабочего процесса NovaSeq Xr	41
Методы	42
Руководство по библиотекам	42
Размораживание картриджей SBS и кластерных картриджей	43
Слив из бутылей для использованных реактивов	44
Подготовка проточной кюветы	46
Объединение, денатурирование и загрузка библиотек для секвенирования	46

Резюме рабочего процесса NovaSeq Xr

Перед началом подготовки образцов или расходных материалов убедитесь, что версия ПО NVCS удовлетворяет минимальным требованиям к программному обеспечению, указанным в следующей таблице.

Таблица 16. Минимальные системные требования к программному обеспечению

Проточная кювета	Минимальная версия программного обеспечения
SP	1.6
S1	1.3.1
S2	Все
S4	1.2.0



ПРИМЕЧАНИЕ

Программное обеспечение NVCS поддерживает ступенчатый запуск новых циклов. См. раздел «*Ступенчатый запуск циклов*» на стр. 64.

Убедитесь, что были выполнены все этапы рабочего процесса NovaSeq Xr в указанном порядке.



ПРИМЕЧАНИЕ

Этапы с 1 по 5 можно выполнять параллельно, они должны быть завершены до выполнения этапа 6.

- 1 Разморозьте картриджи SBS и кластерные картриджи.
- 2 Слейте содержимое бутылей для использованных реактивов.
- 3 Нормализуйте библиотеки.
- 4 Объедините библиотеки и добавьте контрольный образец PhiX (дополнительно)
- 5 Оставьте запечатанную упаковку проточной кюветы на 10–15 минут для прогрева проточной кюветы до комнатной температуры. Используйте проточную кювету в течение 12 часов после извлечения ее из упаковки.



ПРИМЕЧАНИЕ

Выполняйте этапы с 6 по 12 в указанном порядке.

- 6 Разморозьте реактивы ExAmp.

- 7 Подготовьте свежий разбавленный раствор гидроксида натрия (NaOH).
- 8 Денатурируйте и нейтрализуйте пул библиотек.
- 9 Подготовьте проточную кювету и станцию.
- 10 Подготовьте смесь ExAmp Master Mix.
- 11 Загрузите смесь реактивов ExAmp и библиотеки в проточную кювету.
- 12 Загрузите пустую пробирку для библиотеки в положение № 8 кластерного картриджа.

Методы

- ▶ Убедитесь в наличии всего необходимого оборудования и расходных материалов. См. главу *«Расходные материалы и оборудование, приобретаемые пользователем»* на стр. 28.
- ▶ Убедитесь, что прибор включен, а объем свободного дискового пространства достаточен для записи данных цикла секвенирования. См. раздел *«Управление процессом»* на стр. 10.
- ▶ Перед началом этапа 6 рабочего процесса убедитесь, что автоматическая промывка после цикла на обеих сторонах прибора завершена (см. *«Резюме рабочего процесса NovaSeq Xp»* на стр. 41).
- ▶ Всегда проверяйте бирку во время приготовления расходных материалов, чтобы убедиться в том, что компоненты совместимы друг с другом. Не объединяйте компоненты SP, S1, S2 и S4 или компоненты с одной и четырьмя дорожками на одной стороне прибора.
- ▶ Выполняйте инструкции в указанном порядке, используя указанные значения объемов, температур и продолжительностей.
- ▶ За исключением периодов активного перемешивания, все реактивы и библиотеки необходимо держать на льду.
- ▶ Если в инструкции не указывается определенный момент остановки, переходите к следующим этапам незамедлительно.
- ▶ Для успешного запуска секвенирования на проточной кювете с двумя дорожками должны быть заполнены обе дорожки. Для успешного запуска секвенирования на проточной кювете с четырьмя дорожками одна дорожка может быть заполнена частично или может оставаться пустой.
- ▶ Наиболее частой причиной вариаций результатов является неточность переносимых объемов реактивов ExAmp при ручном смешивании и недостаточное их перемешивание. Не допускайте недостаточного перемешивания.



ПРИМЕЧАНИЕ

Запустите цикл секвенирования сразу после загрузки библиотек в проточную кювету, желательно в течение 30 минут.

Руководство по библиотекам

Все инструкции относятся к поддерживаемым методам подготовки библиотек и предполагают, что размер вставки типичен для приложений, поддерживаемых системой NovaSeq 6000.

- ▶ Для получения лучших результатов формирование пула и денатурирование библиотек следует выполнять непосредственно перед секвенированием.

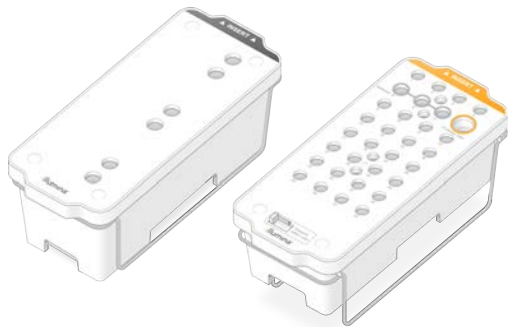
При использовании рабочего процесса NovaSeq Xp не подготавливайте смесь ExAmp Master Mix, пока не будет подготовлено все необходимое для секвенирования.

- ▶ Разбавьте библиотеку до загрузочной концентрации, соответствующей конкретному приложению. Слишком низкая или слишком высокая загрузочная концентрация отрицательно влияет на долю кластеров, проходящих через фильтр (%PF). При низкой концентрации библиотеки возрастает количество секвенируемых дубликатов. Высокая концентрация библиотеки может стать причиной снижения %PF.
- ▶ Для достижения оптимального значения %PF необходимы точная количественная оценка библиотеки и надлежащий контроль качества. Рекомендации см. в документации к используемому комплекту для подготовки библиотек.
- ▶ Загрузите пустую пробирку для библиотеки в положение № 8 кластерного картриджа до настройки цикла секвенирования. Пустая пробирка для библиотеки используется при подготовке кондиционирующей смеси, выполняемой до переноса в проточную кювету. Кондиционирующая смесь способствует повышению эффективности кластеризации до секвенирования.

Размораживание картриджей SBS и кластерных картриджей

- 1 Если цикл секвенирования находится в процессе выполнения, убедитесь, что к моменту завершения размораживания будут доступны обе стороны прибора.
- 2 Извлеките картридж SBS и кластерный картридж из морозильной камеры с температурой от –25 до –15 °С.
- 3 Поместите каждый картридж в проволочную сетку для размораживания. Сетки поставляются с прибором, они призваны предотвратить 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.

**ОСТОРОЖНО!**

При использовании для размораживания реактивов горячей воды качество данных может снизиться или может произойти неудача цикла.

Картридж	Продолжительность размораживания
Картриджи SBS SP, S1 и S2	4 часа
Кластерные картриджи SP, S1 и S2	До 2 часов
Картридж SBS S4	4 часа
Кластерный картридж S4	До 4 часов

- 6 Вытрите основание картриджей бумажным полотенцем. Вытрите насухо пространство между лунками, удалив всю воду.
- 7 Осмотрите укупорку из фольги: она должна быть сухой. Если на фольге есть вода, промокните ее насухо безворсовой салфеткой.
- 8 Осмотрите нижнюю сторону каждого картриджа и удостоверьтесь, что там нет льда — это будет означать, что все реактивы полностью оттаяли.
- 9 Переверните каждый картридж 10 раз для перемешивания реактивов.
- 10 Осторожно постучите дном каждого картриджа по рабочему столу, чтобы выпустить и разбить воздушные пузырьки.
- 11 Если реактивы нельзя будет загрузить в прибор в течение 4 часов, их можно будет хранить при температуре от 2 до 8 °C в течение 24 часов.

Слив из бутылей для использованных реактивов

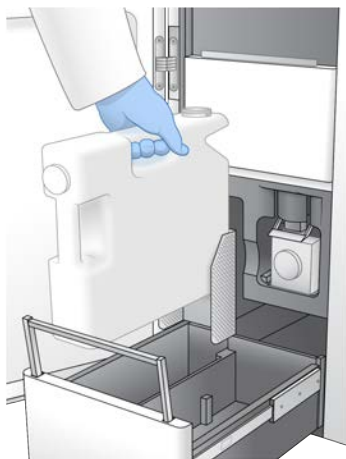
Бутыли с использованными реактивами необходимо опорожнять при **каждом** цикле секвенирования. При выполнении этого действия руководствуйтесь следующей инструкцией. Если система сконфигурирована для вывода использованных реактивов наружу, использованные реактивы будут собираться в малой бутыли, которая должна быть опустошена для каждого нового цикла секвенирования. Большая бутыль должна оставаться на месте.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ**

Этот комплект реактивов содержит потенциально опасные химические вещества. Существует опасность нанесения вреда здоровью при вдыхании, приеме внутрь, попадании на кожу или в глаза. Используйте соответствующие опасности средства индивидуальной защиты, включая защитные очки, перчатки и лабораторный халат. К использованным реактивам нужно относиться как к химическим отходам и утилизировать их в соответствии с действующими региональными, национальными и местными законодательными и нормативными актами. Подробную информацию об окружающей среде, охране здоровья и технике безопасности см. в паспорте безопасности на веб-сайте support.illumina.com/sds.html.

- 1 Извлеките и опорожните малую бутылку для использованных реактивов, как указано ниже.
 - a Поднимите рычаг и извлеките малую бутылку для использованных реактивов из углубления. Возьмите бутылку за бока.
 - b Снимите винтовой колпачок с держателя колпачка, расположенного в передней части бутылки.
 - c Закройте горлышко бутылки винтовым колпачком во избежание разливов.
 - d Не допускайте перемешивания содержимого бутылки с содержимым других бутылей для отходов, утилизируйте его в соответствии с действующими стандартами.
 - e Вновь установите бутылку без колпачка в углубление и опустите рычаг. Колпачок бутылки храните в держателе для колпачков.
- 2 Извлеките и опорожните большую бутылку для использованных реактивов, как указано ниже.
 - a При помощи верхнего рычага извлеките большую бутылку для использованных реактивов, расположенную слева в ящике для буферных растворов.
 - b Снимите винтовой колпачок с держателя колпачка, расположенного в передней части бутылки.
 - c Наденьте на горлышко бутылки винтовой колпачок во избежание разливов.
 - d Утилизируйте содержимое в соответствии с применимыми стандартами. При опорожнении сжимайте обе рукоятки.
 - e Верните бутылку без колпачка в ящик для буферных растворов. Колпачок бутылки храните в держателе для колпачков.

Рисунок 16. Возврат пустой бутылки



- 3 Наденьте новую пару неопудренных перчаток во избежание загрязнения поверхности прибора.
- 4 Закройте ящик буферного отсека и задвиньте дверцу отсека для жидкостей.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Если не выполнить опорожнение бутылей для использованных реактивов, цикл может быть прерван и может произойти переполнение, приводящее к повреждению прибора и создающее угрозу безопасности.

Подготовка проточной кюветы

- 1 Извлеките упаковку с новой проточной кюветой из места хранения с температурой от 2 до 8 °С.
- 2 Оставьте запечатанную упаковку проточной кюветы на 10–15 минут для прогрева проточной кюветы до комнатной температуры.
Используйте проточную кювету в течение 12 часов после извлечения ее из упаковки.

Объединение, денатурирование и загрузка библиотек для секвенирования

Размораживание реактивов ExAmp

- 1 Извлеките по одной пробирке DPX1, DPX2 и DPX3 из хранилища с температурой от -25 °С до -15 °С.
- 2 Размораживайте при комнатной температуре в течение 10 минут.
- 3 Поместите на лед.



ПРИМЕЧАНИЕ

Если требуется повторная заморозка нескрытых реактивов ExAmp, она должна быть произведена сразу после размораживания. Повторная заморозка реактивов ExAmp допускается только один раз. Остаточные количества реактивов не подлежат замораживанию или смешиванию.

Создание пула нормализованных библиотек

Воспользуйтесь следующими инструкциями для нормализации библиотек до необходимой концентрации, а затем объедините их. Библиотеки, секвенируемые в одной дорожке, должны быть объединены в один пул. Общий объем каждого нормализованного пула на дорожку представлен в следующей таблице. Если один и тот же пул секвенируется в нескольких дорожках, умножьте количества, указанные в [Таблица 17](#), на число дорожек.

Таблица 17. Общий объем объединенных библиотек

Режим	Общий объем пула на дорожку (мкл)
SP/S1	18
S2	22
S4	30

Для рабочего процесса Xr выходные данные получают с каждой отдельной дорожки, а не объединяют их по всем дорожкам, как это происходит в стандартном рабочем процессе. В результате пулы библиотек для рабочего процесса Xr содержат меньше библиотек, чем пулы для стандартного рабочего процесса.

Для получения сведений о типичном количестве считываний и рекомендованной плексности в зависимости от приложения и типа проточной кюветы см. следующую таблицу.

Таблица 18. Рекомендованная плексность пула библиотек

Приложение	Тип проточной кюветы	Количество проходящих фильтр считываний при секвенировании парными концевыми фрагментами на дорожку (В)	Количество библиотек на дорожку
Человеческие геномы	SP	0,65–0,8	1
	S1	1,3–1,6	~2
	S2	3,3–4,1	~5
	S4	4,0–5,0	~6
Экзомы	SP	0,65–0,8	~10
	S1	1,3–1,6	~20
	S2	3,3–4,1	~50
	S4	4,0–5,0	~62
Транскриптомы	SP	0,65–0,8	~8
	S1	1,3–1,6	~16
	S2	3,3–4,1	~41
	S4	4,0–5,0	~50

Нормализация библиотек для их объединения

- 1 Определите требуемую концентрацию объединенных библиотек на основании желаемой окончательной загрузочной концентрации.

См. «*Рекомендуемые загрузочные концентрации*» на стр. 47.

Окончательная загрузочная концентрация (пМ)	Концентрация объединенных библиотек (нМ)
100	0,5
150	0,75
200	1,0
250	1,25
300	1,5
350	1,75
400	2,0
450	2,25
500	2,5

- 2 Нормализуйте библиотеки до желаемой загрузочной концентрации объединенной библиотеки при помощи Tris-HCl буфера с pH 8,5 с концентрацией 10 ммоль/л.

Чтобы правильно разбавить библиотеки до соответствующей концентрации, воспользуйтесь калькулятором объединения библиотек, который находится здесь:

support.illumina.com/help/pooling-calculator/pooling-calculator.html.

Рекомендуемые загрузочные концентрации

Оптимальная загрузочная концентрация ДНК зависит от типа библиотеки и размера вставки.

В таблице ниже приведены загрузочные концентрации ДНК, рекомендуемые в предположении о том, что библиотеки Illumina имеют размер вставки ≤ 450 п. о. При загрузке библиотек с меньшим

размером вставки используйте концентрации, близкие к нижнему диапазону рекомендованных значений. Если размеры вставок в библиотеках > 450 п. о., могут понадобиться более высокие загрузочные концентрации.

Таблица 19. Рекомендуемые загрузочные концентрации

Тип библиотеки	Окончательная загрузочная концентрация (пМ)	Загрузочная концентрация смешанных библиотек (нМ)
PhiX ¹	100	0,5
Пул библиотек с ДНК без ПЦР	115–235	0,575–1,175
Пул библиотек с ДНК с ПЦР-усилением	200–400	1,0–2,0
Одна проточная кювета	175–275	0,875–1,375

¹ Для цикла только с применением PhiX.

При наличии оптимизированной загрузочной концентрации для системы HiSeq™ X, HiSeq™ 4000 или HiSeq™ 3000, для рабочего процесса NovaSeq Xr можно использовать примерно такую же концентрацию. Если загрузочная концентрация оптимизирована для стандартного рабочего процесса NovaSeq, то для рабочего процесса NovaSeq Xr можно использовать концентрацию, меньшую примерно на одну треть.



ПРИМЕЧАНИЕ

Может потребоваться титрование библиотек для определения оптимальной вносимой концентрации. После определения оптимальной концентрации загрузки эта величина может применяться для других библиотек этого типа.

Объединение нормализованных библиотек и добавление контрольного образца PhiX (дополнительно)

- 1 Объедините необходимые объемы каждой нормализованной библиотеки в новой микроцентрифужной пробирке для получения подходящего окончательного объема для дорожки.

Режим	Общий объем пула на дорожку (мкл)
SP/S1	18
S2	22
S4	30

Например, в случае шестикратного объединения библиотек и режима S4 объедините по 5 мкл каждой из библиотек, нормализованных до одной и той же концентрации.

- 2 **[Дополнительно.]** Храните оставшиеся количества **отдельных** библиотек при температуре от –25 до –15 °С.
- 3 **[Дополнительно.]** Добавьте 1-процентный раствор неденатурированного PhiX, как показано ниже.
 - а Разбавьте 10 нМ PhiX до концентрации 0,25 нМ с помощью буфера трис-HCl с pH 8,5 и концентрацией 10 мМ.

- b Добавьте необходимый объем PhiX в пробирку с объединенными неденатурированными библиотеками.

Режим	Неденатурированный 0,25 нМ PhiX (мкл)	Неденатурированный пул библиотек (мкл)
SP/S1	0,7	18
S2	0,8	22
S4	1,1	30

При обогащении PhiX уровень 1 % является рекомендованным количеством для сбалансированных библиотек. Для библиотек с малым разнообразием может потребоваться большее количество. Свяжитесь с отделом технической поддержки компании Illumina, чтобы получить рекомендации по тому, как использовать контрольную библиотеку PhiX в случае, если для рабочих библиотек характерно низкое разнообразие.

Подготовка свежего разбавленного раствора гидроксида натрия (NaOH)

Подготовьте **свежий** разбавленный раствор NaOH концентрацией 0,2 Н для секвенирования. Для минимизации ошибок пипетирования, которые могут повлиять на конечную концентрацию NaOH, подготовьте по меньшей мере 30 мкл разбавленного NaOH для каждой проточной кюветы. В случае цикла с двойной проточной кюветой используйте 60 мкл разбавленного раствора NaOH.



ОСТОРОЖНО!

Наличие свежеприготовленного NaOH концентрацией 0,2 Н является обязательным для процесса денатурирования. Неправильное денатурирование может снизить выход оснований.

- Чтобы разбавить 1 Н NaOH до 0,2 Н, соедините в пробирке для микроцентрифуги следующие количества реактивов (для одной проточной кюветы):
 - ▶ вода лабораторного класса (24 мкл);
 - ▶ основной раствор 1 н NaOH (6 мкл).
 Эти объемы позволят получить 30 мкл 0,2 Н NaOH. Для двух проточных ячеек увеличьте объемы вдвое.
- Переверните несколько раз или поместите на вортексную мешалку, чтобы тщательно перемешать. Закройте пробирку крышкой и используйте в течение следующих **12 часов**.

Денатурирование объединенных библиотек и добавление контрольного образца PhiX (дополнительно)

- Добавьте 0,2 Н NaOH в пробирку с неденатурированным пулом библиотек и PhiX (дополнительно), как указано ниже.

Режим	0,2 Н NaOH (мкл)	Неденатурированный пул библиотек (мкл)	Полученный объем
SP/S1	4,0	18,0	22,0 или 22,7 мкл при использовании PhiX
S2	5,0	22,0	27,0 или 27,8 мкл при использовании PhiX
S4	7,0	30,0	37,0 или 38,1 мкл при использовании PhiX

- Закройте колпачком и быстро взболтайте.
- Центрифугируйте при ускорении не более 280 × g на протяжении 1 минуты.

- 4 Инкубируйте при комнатной температуре в течение 8 минут для денатурирования.
- 5 Добавьте 400 мМ трис-HCl, pH 8,0 для нейтрализации следующим образом.

Режим	400 мМ трис-HCl, pH 8,0 (мкл)	Полученный объем
SP/S1	5,0	27,0 или 27,7 мкл при использовании PhiX
S2	6,0	33,0 или 33,8 мкл при использовании PhiX
S4	8,0	45,0 или 46,1 мкл при использовании PhiX

- 6 Закройте колпачком и быстро взболтайте.
- 7 Центрифугируйте при ускорении не более 280 × g на протяжении 1 минуты.
- 8 Держите денатурированные библиотеки на льду, пока не будет подготовлена смесь ExAmp master mix.
- 9 **[Дополнительно.]** Если обработка не выполняется сразу же, пробирку можно закрыть крышкой и поместить на хранение при температуре от –25 до –15 °C сроком до трех недель. После размораживания не замораживать повторно.

**ОСТОРОЖНО!**

Хранить пулы денатурированных библиотек следует только в случае крайней необходимости. Длительное хранение может привести к увеличению количества дублирований, что снижает выход.

Подготовка проточной кюветы и станции

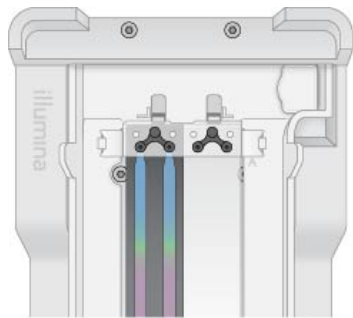
- 1 Поставьте станцию проточной кюветы NovaSeq Xp на ровную поверхность. Держите проточную кювету горизонтально, пока она не будет загружена в прибор.
- 2 Осмотрите станцию и убедитесь в отсутствии загрязнений.
- 3 Наденьте новую пару неопудренных перчаток во избежание загрязнения стеклянной поверхности проточных кювет.
- 4 Положив упаковку проточной кюветы на ровную поверхность, оторвите укупорочную фольгу, потянув за язычок в угловой области.
- 5 Снимите прозрачный пластмассовый фиксатор, покрывающий проточную кювету.
- 6 Извлеките проточную кювету из упаковки. Держите проточную кювету за боковые стороны, чтобы избежать касания стекла или прокладок на нижней стороне.
- 7 Если на любой из стеклянных поверхностей видны посторонние частицы, протрите эту поверхность безворсовой спиртовой салфеткой и высушите низковорсной лабораторной салфеткой.
- 8 Утилизируйте упаковку надлежащим образом.

**ПРИМЕЧАНИЕ**

Небольшое количество царапин или других незначительных косметических дефектов на проточной кювете является нормальным явлением и не сказывается на качестве данных.

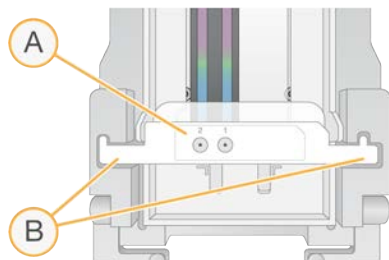
- 9 Переверните проточную кювету, направив ее верхней стороной **вниз**.
- 10 Проведите выходной конец проточной кюветы под фиксатором и положите ее на станцию. См. раздел «*Проточная кювета*» на стр. 14 и «*Станция проточной кюветы NovaSeq Xp*» на стр. 18.

Рисунок 17. Установка проточной кюветы



- 11 Развернув лунки кверху, установите коллектор NovaSeq Xp над входным концом проточной кюветы. Убедитесь, что опоры коллектора плотно зафиксированы в вырезах станции.

Рисунок 18. Установка коллектора NovaSeq Xp



- A Лунки коллектора NovaSeq Xp повернуты вверх.
- B Опоры коллектора NovaSeq Xp размещены в вырезах станции.

- 12 Закройте зажим, чтобы закрепить проточную кювету и коллектор NovaSeq Xp, и герметизируйте соединение прокладками.
- 13 После загрузки пулов библиотек в проточную кювету утилизируйте коллектор NovaSeq Xp. Коллектор NovaSeq Xp является изделием одноразового применения.

Подготовка смеси ExAmp Master Mix

При подготовке смеси ExAmp Master Mix используется пробирка для микроцентрифуги, способная вместить хотя бы в два раза больше необходимого объема.

- ▶ Для проточной кюветы с двумя дорожками используйте пробирку 0,5 мл или 1,7 мл.
- ▶ Для проточной кюветы с четырьмя дорожками используйте пробирку 1,7 мл.

Наиболее частой причиной вариаций результатов является неточность переносимых объемов при ручном смешивании реактивов ExAmp и недостаточное их перемешивание. Не допускайте недостаточного перемешивания.

- 1 Для перемешивания DPX1 и DPX2 кратковременно переворачивайте или поместите в вортексную мешалку.
- 2 Кратковременно поместите DPX3 в вортексную мешалку для перемешивания. Реактивы ExAmp могут расслаиваться при хранении. Они являются вязкими жидкостями, особенно DPX2 и DPX3. Из-за высокой вязкости реактив DPX3 трудно перемешать методом переворачивания.
- 3 Кратковременно центрифугируйте реактивы DPX1, DPX2 и DPX3.

- 4 Объедините в подходящей пробирке для микроцентрифуги следующие объемы реактивов в указанном порядке.

Порядок добавления	Реактив *	Объем для проточной кюветы с двумя дорожками (SP/S1/S2) (мкл)	Объем для проточной кюветы с четырьмя дорожками (S4) (мкл)
1	DPX1	126	315
2	DPX2	18	45
3	DPX3	66	165

* Крышки пробирок с реактивами DPX могут иметь цветовое кодирование (красная для DPX1, желтая для DPX2 и синяя для DPX3).

При повторном закрытии крышек пробирок убедитесь, что правильность цветового кодирования сохраняется.

Эти объемы позволяют сформировать 210 мкл смеси ExAmp master mix для режима SP, S1 или S2 или 525 мкл смеси Master Mix для режима S4. Этих объемов достаточно для выполнения соответствующих режимов. Для учета возможных ошибок дозирования при загрузке библиотек с помощью пипетки в проточную кювету включен дополнительный объем.

- 5 Набирайте и переносите смесь пипеткой медленно, чтобы избежать формирования пузырей, и убедитесь, что из наконечника пипетки вытеснен весь набранный объем.
- 6 Перемешивайте в вортексной мешалке в течение 20–30 секунд или до полного перемешивания.



ПРИМЕЧАНИЕ

Смесь ExAmp master mix стабильна при перемешивании в вортексной мешалке.

Смесь может выглядеть мутной, это нормальное явление.

- 7 Центрифугируйте с ускорением до $280 \times g$ на протяжении 1 минуты.
- 8 **Для достижения наилучших результатов секвенирования переходите к выполнению следующего этапа немедленно. При необходимости смесь Master mix можно хранить на льду до 1 часа. В случае хранения при комнатной температуре необходимо использовать в течение 30 минут.**

Загрузка библиотек в проточную кювету

Для получения наилучших результатов действуйте следующим образом.

- ▶ Держите загруженную проточную кювету при комнатной температуре. Не охлаждайте ее и не помещайте ее на лед.
- ▶ Увеличение продолжительности инкубации может уменьшить долю кластеров, проходящих фильтр (%PF).
- ▶ Запускайте цикл в течение 30 минут после загрузки пулов библиотек в проточную кювету.
- ▶ Незамедлительное использование смеси реактивов ExAmp и библиотеки позволит достичь лучшего результата.

- 1 Добавляйте смесь ExAmp Master Mix к каждому пулу денатурированной библиотеки следующим образом, а затем перемешивайте в вортексной мешалке 20–30 секунд. При использовании стрипа с пробирками пипетируйте материал до однородного смешивания.

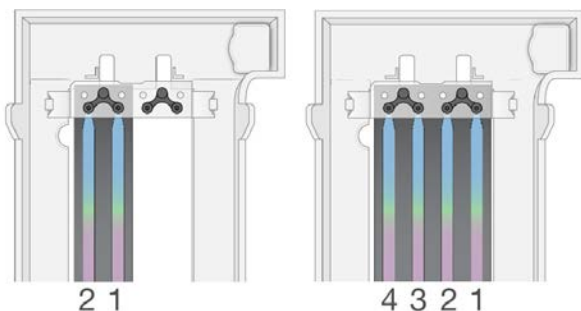
Режим	Денатурированный пул библиотек (мкл)	Смесь ExAmp Master Mix (мкл)	Полученный объем (мкл)
SP/S1	27	63	90
S2	33	77	110
S4	45	105	150

- 2 Центрифугируйте с ускорением до $280 \times g$ на протяжении 1 минуты.
- 3 С помощью пипетки р200 мкл добавьте необходимое количество смеси реактивов ExAmp и библиотеки в каждую лунку коллектора NovaSeq Xp.
 - ▶ Чтобы избежать образования пузырей, вносите образцы медленно.
 - ▶ Убедитесь, что смесь с пулом библиотеки внесена в лунку, соответствующую планируемой дорожке.
 - ▶ При переносе материала пипеткой старайтесь не касаться фильтра на дне лунки.
 - ▶ При необходимости внесения смеси в другие лунки коллектора, дожидаться завершения заполнения первой лунки не обязательно.

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

Нумерация лунок коллектора NovaSeq Xp соответствует нумерации дорожек проточной кюветы. При переворачивании проточной кюветы нумерация дорожек меняется на обратную.

Рисунок 19. Нумерация дорожек в перевернутом состоянии



- 4 После добавления смеси реактивов ExAmp и библиотеки во все лунки коллектора подождите около 2 минут, чтобы смесь достигла противоположного конца каждой дорожки. Образование маленького пузырька воздуха в противоположном конце дорожки является нормальным явлением. После заполнения дорожки в лунках коллектора может оставаться небольшой объем смеси.



ОСТОРОЖНО!

Не наклоняйте проточную кювету, пытаясь определить, заполнены ли дорожки или имеются ли в них пузырьки. Если наклонить проточную кювету, это может привести к вытеканию смеси реактивов ExAmp и библиотеки из проточной кюветы. Если дорожка заполнена не полностью, не пытайтесь это исправить. Выходное количество данных из частично заполненной дорожки может уменьшиться. Не пытайтесь извлечь образец из проточной кюветы.



ПРИМЕЧАНИЕ

Не наклоняйте проточную кювету при ее переносе.

Подготовка картриджей SBS и кластерных картриджей

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

Загрузка пустой пробирки для библиотеки

- 1 Снимите крышку с пробирки для библиотеки, поставляемой в комплекте реактивов NovaSeq 6000.
- 2 Вставьте пустую пробирку для библиотеки без крышки в положение **Пробирка для библиотеки** (положение № 8) в кластерном картридже.
Пустая пробирка для библиотеки должны присутствовать для прохождения сканирования RFID и смешивания реактивов в системе. Штрихкод пробирки с библиотекой не проверен на соответствие штрихкоду, указанному в файле LIMS. Проверка RFID выполняется с целью убедиться, что пробирка не использовалась.

Рисунок 20. Пробирка с библиотекой без крышки загружена в положение № 8



Глава 6. Секвенирование

Настройка цикла секвенирования	55
Отслеживание выполнения цикла	63
Ступенчатый запуск циклов	64
Удаление цикла	65
Отсоединение положения № 30	65
Автоматическая промывка после цикла	66

Настройка цикла секвенирования

Компания Illumina рекомендует пользователю оставаться в системе во время работы программного обеспечения NVCS и выполнения цикла секвенирования.

- 1 Снимите все посторонние предметы с поверхности прибора.
Все поверхности во время цикла секвенирования должны оставаться чистыми; не опирайтесь на прибор. Давление на дверцу проточной кюветы может привести к ее открытию, что станет причиной остановки цикла. Остановленные циклы секвенирования возобновить нельзя.



ПРИМЕЧАНИЕ

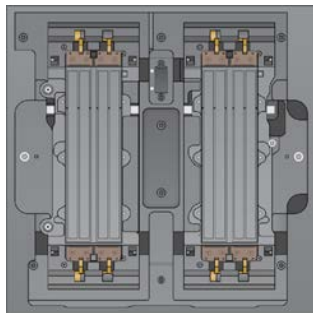
Поддерживается ступенчатый запуск новых циклов. Таймер ступенчатого запуска циклов указывает время, когда можно запустить ступенчатый цикл. Дополнительные сведения см. в разделе «*Ступенчатый запуск циклов*» на стр. 64.

- 2 На главной странице выберите **Sequence** (Секвенирование), а затем выберите цикл с одной проточной кюветой или двумя.
 - ▶ **A + B** — цикл с двумя проточными кюветами.
 - ▶ **A** — цикл с одной проточной кюветой на стороне A.
 - ▶ **B** — цикл с одной проточной кюветой на стороне B.Программное обеспечение инициирует серию страниц настройки цикла, начиная со страницы Load (Загрузка).
- 3 Выберите **OK**, чтобы принять предупреждение к сведению и открыть дверцу проточной кюветы.

Загрузка в прибор проточной кюветы

- 1 Если в приборе есть проточная кювета от предыдущего цикла, выньте ее.
- 2 Если на площадке проточной кюветы видны посторонние частицы, протрите всю площадку, включая область подключения струйной автоматики и стеклянную поверхность мишени центровки оптической системы спиртовой салфеткой. Вытрите насухо безворсовой салфеткой.

Рисунок 21. Площадка проточной кюветы



- 3 **[Стандартный рабочий процесс.]** Извлеките проточную кювету из упаковки, как указано ниже.
- a Наденьте новую пару неопудренных перчаток во избежание загрязнения стеклянной поверхности проточных кювет.
 - b Положив упаковку на ровную поверхность, оторвите укупорочную фольгу, потянув за язычок в угловой области.
 - c Снимите прозрачный пластмассовый фиксатор, покрывающий проточную кювету.
 - d Извлеките проточную кювету из упаковки. Держите проточную кювету за боковые стороны, чтобы избежать касания стекла или прокладок на нижней стороне.
 - e Если на любой из стеклянных поверхностей видны посторонние частицы, протрите эту поверхность безворсовой спиртовой салфеткой и высушите низковорсной лабораторной салфеткой.
 - f Утилизируйте упаковку надлежащим образом.



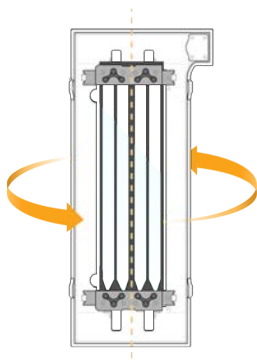
ПРИМЕЧАНИЕ

Небольшое количество царапин или других незначительных косметических дефектов на проточной кювете является нормальным явлением и не сказывается на качестве данных.

- 4 **[Рабочий процесс NovaSeq Xp.]** Выгрузите проточную кювету из станции, как указано ниже.
- a Откройте зажим, удерживающий проточную кювету и коллектор.
 - b Не допуская попадания капель жидкости на проточную кювету, осторожно снимите и утилизируйте коллектор.
 - c Если капли жидкости попадут на проточную кювету, вытрите их безворсовой салфеткой, смоченной спиртом, и просушите безворсовой лабораторной салфеткой.
 - d Выгружая проточную кювету из станции, держите ее за боковые стороны. Удерживайте проточную кювету горизонтально.
 - e Если на прокладках виден остаточный материал, промокните четыре прокладки проточной кюветы безворсовой салфеткой до высыхания. Не касайтесь прокладок руками.

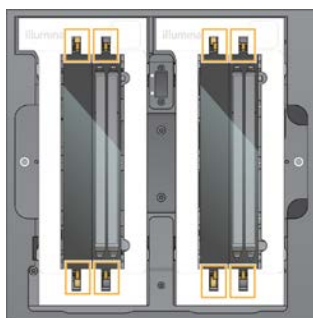
- f Проверните проточную кювету вдоль длинной оси, направив ее верхней стороной вниз.

Рисунок 22. Переворот проточной кюветы вдоль длинной оси



- g Перед возвратом станции на хранение, осмотрите ее и убедитесь в отсутствии загрязнений.
- 5 Выровняйте проточную кювету по четырем поднятым зажимам и поместите ее на площадку проточной кюветы.

Рисунок 23. Загружаемые проточные кюветы выравнивают по зажимам



- 6 Нажмите **Close Flow Cell Door** (Закрыть дверцу проточной кюветы). Дверца проточной кюветы закроется, датчики и RFID будут проверены, на экране появится идентификационный номер проточной кюветы.

Загрузка картриджей SBS и кластерных картриджей



ПРИМЕЧАНИЕ

При использовании рабочего процесса NovaSeq Xp перед загрузкой кластерного картриджа убедитесь, что в картридже установлена пустая пробирка для библиотек без крышки.

- 1 Откройте створчатую дверцу отсека для жидкостей, а затем откройте дверцу холодильника реактивов.
- 2 Извлеките использованный картридж SBS и кластерный картридж. У использованных картриджей закрывающая фольга проколота.
- 3 Утилизируйте неизрасходованное содержимое в соответствии с применимыми стандартами. О том, как безопасно утилизировать резервуар в положении № 30 кластерного картриджа, см. в разделе «Отсоединение положения № 30» на стр. 65.

- 4 Загрузите подготовленные картриджи в ящик холодильника для реактивов так, чтобы бирки с надписью **Insert** (Вставить) были направлены к задней части прибора.
 - ▶ Поместите картридж SBS (серая бирка) в левое положение.
 - ▶ Поместите кластерный картридж (оранжевая бирка), содержащий пробирку библиотеки без колпачка, в правое положение.

Рисунок 24. Загруженные картриджи с реактивами

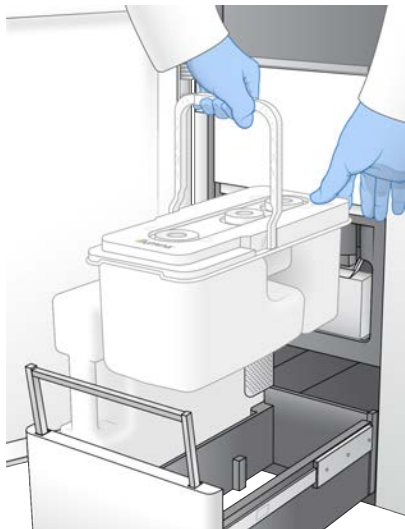


- 5 Вставьте ящик в холодильник, а затем закройте дверцу холодильника для реактивов. Проверяются датчики и RFID. На экране будут отображены ID пробирки с библиотекой и двух картриджей.

Загрузка картриджа с буфером

- 1 Потяните за металлическую ручку, чтобы открыть ящик для буферных растворов.
- 2 Выньте использованный картридж с буфером с правой стороны ящика для буферных растворов.
У использованных картриджей с буфером закрывающая фольга проколота.
- 3 Поместите новый картридж с буфером в ящик для буферных растворов таким образом, чтобы бирки **Illumina** были обращены к передней части ящика. Выставьте картриджи по приподнятым направляющим на полу ящика и по его сторонам.
При правильной загрузке картриджи с буфером располагаются равномерно и ящик можно закрыть.

Рисунок 25. Загрузка картриджа с буфером



- 4 Если обе бутылки для использованных реактивов опустошены, установите флажок, подтверждающий, что обе бутылки для использованных реактивов опустошены.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Если не выполнить опорожнение бутылей для использованных реактивов, цикл может быть прерван и может произойти переполнение, приводящее к повреждению прибора и создающее угрозу безопасности.

- 5 Выберите доступную кнопку.
 - ▶ **Log In** (Вход) — открывает страницу входа в BaseSpace Sequence Hub. Выполняет переход к «*Вход в BaseSpace Sequence Hub*» (Войти в).
 - ▶ **Run Setup** (Настройка цикла) — пропускает работу с BaseSpace Sequence Hub и открывает страницу Run Setup (Настройка цикла) для ввода параметров цикла. Выполняет переход к разделу «*Ввод параметров цикла*» на стр. 60.

Доступность кнопок зависит от того, как система сконфигурирована для использования BaseSpace Sequence Hub.

Вход в BaseSpace Sequence Hub

При открытии программного обеспечения NVCS рабочая группа из BaseSpace Sequence Hub по умолчанию выбирается в качестве рабочей группы пользователя. Если пользователь не укажет рабочую группу по умолчанию, будет выбрана его персональная рабочая группа.

- 1 **[Дополнительно.]** Обновление настроек BaseSpace Sequence Hub для текущего цикла.
 - ▶ Для прекращения использования BaseSpace Sequence Hub снимите флажок **BaseSpace Sequence Hub**, а затем выберите **Run Setup** (Настройка цикла), чтобы продолжить работу без входа в систему.
 - ▶ Чтобы отправить данные цикла секвенирования в BaseSpace Sequence Hub для дистанционного мониторинга и анализа данных, выберите **Run Monitoring and Storage** (Отслеживание и хранение цикла). Для этого варианта необходимо наличие протокола анализа.

- ▶ Чтобы отправить в BaseSpace Sequence Hub только файлы InterOp, runinfo.xml и runParameters.xml для дистанционного мониторинга, выберите **Run Monitoring** (Только отслеживание цикла).
- 2 Введите свои имя пользователя и пароль BaseSpace Sequence Hub, затем выберите **Sign In** (Войти в).
 - 3 Если будет предложено, выберите рабочую группу, чтобы загрузить в нее данные цикла, а затем выберите **Run Setup** (Настройка цикла).
Предложение будет показано только тем пользователям, которые относятся к нескольким рабочим группам.

Ввод параметров цикла

- 1 Если рабочий процесс NovaSeq Xp доступен для использования, выберите тип рабочего процесса.
 - ▶ При выборе **NovaSeq Xp** убедитесь, что загружена пустая пробирка для библиотеки.
 - ▶ При выборе **NovaSeq Standard** (Стандартный NovaSeq) убедитесь, что в пробирку для библиотеки загружен образец.
- 2 В поле Run Name (Название цикла) введите желаемое название, позволяющее идентифицировать текущий цикл.
Название цикла может содержать буквенно-цифровые символы, дефисы и подчеркивания.
- 3 Введите число циклов для каждого считывания и длину индекса в цикле секвенирования. Максимальное количество индексных циклов не ограничивается, но сумма циклов считывания и индексных циклов должна быть меньше количества циклов для соответствующего комплекта.
 - ▶ **Read 1** (Считывание 1) — введите значение до 151 цикла для комплектов, рассчитанных на 300 циклов, или до 251 для комплектов, рассчитанных 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 (i5).
 - ▶ **Read 2** (Считывание 1) — введите значение до 151 цикла для комплектов, рассчитанных на 300 циклов, или до 251 для комплектов, рассчитанных на 500 циклов. Это значение, как правило, не отличается от значения для параметра Read 1 (Считывание 1).



ПРИМЕЧАНИЕ

Количество циклов, анализируемых при считывании 1 и считывании 2, на один цикл меньше введенного значения. Например, для выполнения секвенирования 150 циклов с парными концевыми фрагментами (2 × 150 п. о.), введите значение 151 в поля Read 1 (Считывание 1) и Read 2 (Считывание 2).

Сумма четырех введенных значений может превышать указанное количество циклов для выбранного комплекта реактивов на величину до 23 циклов для секвенирования с парными концевыми фрагментами и до 30 циклов для секвенирования с одним считыванием.

- 4 Нажмите **Advanced Options** (Дополнительные возможности), чтобы применить настройки для текущего цикла.
Эти настройки являются дополнительными, если не указано иное.
 - ▶ **Custom Primers** (Пользовательские праймеры) — установите флажок **Custom Primers** (Пользовательские праймеры), а затем установите соответствующие флажки.
 - ▶ **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).
- ▶ **Output Folder** (Папка выходных данных) — выберите опцию **Browse** (Обзор) для изменения местоположения папки выходных данных для текущего цикла. Папка выходных данных необходима, если цикл не связан с BaseSpace Sequence Hub для хранения.
- ▶ **Samplesheet** (Протокол анализа) — выберите **Browse** (Обзор), чтобы выгрузить протокол анализа, что требуется при использовании BaseSpace Sequence Hub для отслеживания и хранения цикла, или другой файл .csv. Файл CSV копируется в папку выходных данных и не влияет на параметры цикла.
- ▶ **Custom Recipe** (Пользовательский набор параметров) — выберите **Custom Recipe** (Пользовательский набор параметров), затем **Browse** (Обзор), чтобы использовать для этого цикла секвенирования пользовательский набор параметров в формате XML.



ПРИМЕЧАНИЕ

Изменение этапов кластеризации в пользовательском наборе параметров не поддерживается.

5 Выберите **Review** (Просмотр).

Программное обеспечение подтверждает, что указанные параметры соответствуют набору параметров.

Подтверждение параметров цикла

- 1 Подтвердите параметры цикла, отображаемые на экране Review (Проверка).
- 2 **[Дополнительно.]** Выберите вариант **Back** (Назад) и вернитесь на страницу настройки цикла, чтобы отредактировать параметры цикла.
- 3 Выберите **Start Run** (Запустить цикл).
Автоматически начнется серия проверок перед циклом.

Обзор проверок перед циклом

- 1 Подождите около 5 минут до завершения проверок перед циклом.
После успешного завершения проверок цикл начинается автоматически.



ПРИМЕЧАНИЕ

Чтобы избежать переполнения жесткого диска, не копируйте данные на диск C:\ после запуска циклов.

- 2 Если проверки перед циклом закончатся сбоем из-за ошибки датчика (например, проточная кювета была не обнаружена), необходимо выйти и перезагрузить рабочий процесс.
- 3 Если другие проверки перед циклом заканчивались сбоем, выберите опцию **Retry** (Повтор) для повторного проведения проверки, закончившейся сбоем, или **Retry All** (Повторить все), чтобы повторно выполнить все проверки.
Для получения возможности запуска цикла ошибки должны быть устранены. См. *«Ошибки проверок перед циклом»* на стр. 73 для получения сведений о поиске и устранении неисправностей.
- 4 Нажмите значок **Error** (Ошибка), чтобы увидеть подробные сведения об ошибке.

- 5 Если сбоем окончилась проверка соосности, выполните устранение ошибки по следующей схеме.
- a Выберите опцию **Reload** (Повторная загрузка), а затем **OK** для подтверждения возврата на экран загрузки.
 - b Уберите все посторонние предметы с верхней крышки прибора и нажмите **OK**.
 - c Загрузите проточную кювету и затем выберите опцию **Run Setup** (Настройка цикла).
 - d Переходите по всем экранам, чтобы повторно считать каждый RFID, и вернитесь на экран проверок перед циклом.
 - e Повторите проверку.

Отслеживание выполнения цикла

- 1 Отслеживание выполнения цикла, интенсивности и баллы за качество отображаются на экране в виде числовых показателей цикла.
Дополнительную информацию о числовых параметрах цикла см. в разделе «Анализ в режиме реального времени» на стр. 78.

Рисунок 26. Выполнение и числовые показатели цикла секвенирования



- A **Time to completion** (Время до завершения) — показывает дату и время завершения цикла (гггг-мм-дд чч:мм).
- B **Run progress** (Прогресс выполнения) — текущий этап цикла. Размер индикатора выполнения не пропорционален скорости выполнения каждого этапа цикла.
- C **Q-scores** (Q-оценки) — распределение оценок качества (Q-scores).
- D **Intensity** (Интенсивность) — служит для отображения значения интенсивностей кластера 90-го перцентиля 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 **Estimated yield (Gb)** (Оценка выхода [Гб]) — число оснований, распознанных в цикле секвенирования.
- G **Q30** — доля распознавания оснований с оценкой Q-score ≥ 30 .



ПРИМЕЧАНИЕ

Если во время работы ПО NVCS будет инициировано завершение работы или перезапуск, пользователь должен подтвердить данное действие, прежде чем будет продолжено завершение работы или перезапуск.

Числовые показатели цикла

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

Кластеризация занимает около 2 часов; затем начинается секвенирование с 1-го вложенного цикла. Количественные показатели обновляются по мере продвижения секвенирования. После 26-го вложенного цикла отображаются значения кластеров, прошедших фильтр, выход и оценки качества.

Статус обработки

Экран Process Management (Управление процессом) содержит списки состояний по каждому циклу. В основном меню выберите опцию **Process Management** (Управление процессом).

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

- ▶ **Run status** (Статус цикла) — на основании обработки файлов SBCL.
- ▶ **Network** (Сетевая копия) — на основании передачи файлов с помощью универсальной службы копирования.
- ▶ **BaseSpace** (Загрузка в BaseSpace) — на основании загрузок, сделанных в BaseSpace Sequence Hub, если это практикуется.

Когда процесс завершается, он обозначается зеленой отметкой. Дополнительную информацию см. в разделе «*Управление процессом*» на стр. 10.

Ступенчатый запуск циклов

Пользователь может настраивать и запускать цикл на стороне прибора, находящейся в холостом режиме. Этот процесс называется ступенчатый запуск. Ступенчатые циклы настраиваются в определенные временные точки в ходе цикла, что обозначается следующими состояниями таймера обратного отсчета.

- ▶ **Run Start: Available** (Запуск цикла: доступно) — ступенчатый запуск доступен в текущий момент. Отображаются дата и время, указывающие, когда ступенчатый запуск станет недоступен. Выберите **Sequence** (Последовательность), чтобы начать новый ступенчатый цикл секвенирования после завершения текущего цикла.
- ▶ **Run Start: Unavailable** (Запуск цикла: недоступно) — ступенчатый запуск в текущий момент не доступен. Отображаются дата и время, указывающие, когда ступенчатый запуск будет доступен на другой стороне прибора.
- ▶ **Waiting...** (Ожидание...) — если в период недоступности ступенчатого запуска была выполнена попытка нового цикла, состояние изменится на **Waiting** (Ожидание), и отобразятся дата и время, указывая на приблизительное время готовности прибора к новому циклу секвенирования. Когда ступенчатый запуск станет доступным, прибор перейдет к процессу настройки цикла.

Во время настройки нового цикла программное обеспечение автоматически приостанавливается и возобновляет цикл секвенирования в соседней проточной кювете по мере необходимости. Во время паузы система автоматически перейдет в безопасное состояние.

Процедура

- 1 На экране Home (Главная страница) выберите **Sequence** (Секвенирование), а затем определите, **A** или **B**.
Выбранная сторона должна находиться в текущий момент в холостом режиме.

- 2 Дождитесь приостановки цикла на соседней проточной кювете. Чтобы отменить новый цикл и предотвратить паузы, выберите **Cancel** (Отмена).
Если соседним циклом выполняется генерация кластеров, ресинтез парных концевых фрагментов, визуализация или промывка, программное обеспечение завершает текущий этап до паузы.
- 3 Когда соседний цикл приостанавливается и дверца проточной кюветы открывается, настройте новый цикл.
Когда новый цикл начнется, приостановленный цикл автоматически возобновится вместе с началом нового цикла.

Удаление цикла

По завершении передачи данных, используя Process Management (Управление процессом), можно удалить текущий цикл, чтобы освободить память для последующего цикла. Удаление циклов позволяет очистить SE и C:\ без удаления файлов обслуживания системы или влияния на сеть или на экземпляр, хранящийся в BaseSpace Sequence Hub. Циклы выполняющегося секвенирования удалить нельзя.

- 1 В основном меню выберите опцию **Process Management** (Управление процессом).
- 2 **[Дополнительно.]** Убедитесь, что у каждого процесса в цикле отображается зеленая отметка, указывающая на завершение переноса данных.
Пользователь может удалить цикл, перенос которого в сетевое расположение или BaseSpace Sequence Hub не завершен, но все данные цикла при этом будут потеряны.
- 3 Выберите опцию **Delete Run** (Удалить цикл), а затем выберите **Yes** (Да), чтобы подтвердить действие.
- 4 Нажмите **Done** (Готово).

Отсоединение положения № 30

В положении № 30 кластерного картриджа имеется емкость с формамидом. Она извлекается из использованного кластерного картриджа и утилизируется отдельно.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Этот комплект реактивов содержит потенциально опасные химические вещества. Существует опасность нанесения вреда здоровью при вдыхании, приеме внутрь, попадании на кожу или в глаза. Используйте соответствующие опасности средства индивидуальной защиты, включая защитные очки, перчатки и лабораторный халат. К использованным реактивам нужно относиться как к химическим отходам и утилизировать их в соответствии с действующими региональными, национальными и местными законодательными и нормативными актами. Подробную информацию об окружающей среде, охране здоровья и технике безопасности см. в паспорте безопасности на веб-сайте support.illumina.com/sds.html.

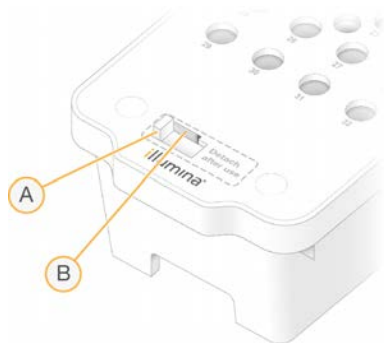
- 1 Надев перчатки, нажмите на белый пластмассовый выступ с надписью **Detach after use** (Отсоединить после использования) и сдвиньте его вправо.
- 2 Удерживая руку под резервуаром или положив его на твердую поверхность, нажмите на прозрачный пластмассовый выступ по направлению к бирке Illumina, чтобы высвободить резервуар из кластерного картриджа.



ПРИМЕЧАНИЕ

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

Рисунок 27. Положение № 30



- A Белый пластмассовый выступ для отсоединения.
- B Прозрачный пластмассовый выступ для высвобождения.

- 3 Утилизируйте емкость в соответствии с применимыми стандартами.

Автоматическая промывка после цикла

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

Когда промывка завершается, система переходит в безопасное состояние и делает активной кнопку Home (Исходное состояние). Оставьте расходные материалы на месте до следующего цикла. После промывки сипперные трубки остаются в картридже SBS и кластерном картридже во избежание попадания воздуха в систему. Сипперные трубки в картридже с буфером поднимаются настолько, чтобы можно было опорожнить бутылки для использованных реактивов.



ПРИМЕЧАНИЕ

Если во время автоматической промывки после цикла возникнет ошибка до завершения данной промывки, потребуется профилактическая промывка.

Глава 7. Техническое обслуживание

Профилактическое техническое обслуживание	67
Выполнение профилактической промывки	67
Обновление программного обеспечения	71

Профилактическое техническое обслуживание

Компания 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 компании Illumina и организуйте платный сеанс профилактического технического обслуживания.

Выполнение профилактической промывки

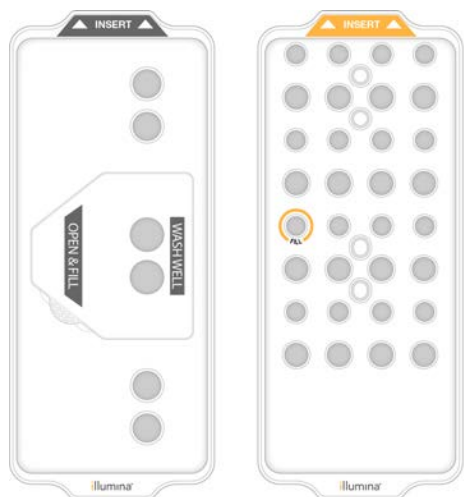
Программное обеспечение запрашивает проведение профилактической промывки в следующих случаях.

- ▶ Не проводился цикл с четырьмя дорожками с промывкой после цикла в течение последних 14 дней.
- ▶ Не проводилась профилактическая промывка в течение последних 14 дней.
- ▶ Промывка после цикла произошла со сбоем или не завершилась.

При профилактической промывки система промывается поставляемыми пользователем растворами Tween 20 и NaOCl. Разбавленные растворы откачивают из промывного картриджа в проточную кювету, в использованные бутылки реактивов и в резервуар каждого картриджа, промывая все сипперные трубки. Промывка длится примерно 80 минут.

Для выполнения профилактической промывки нужны картридж с буфером, промывочный картридж SBS, кластерный промывочный картридж и промывная проточная кювета с четырьмя дорожками, которая поставляется с прибором (или использованная проточная кювета с четырьмя дорожками). Как и в случае с картриджами реактивов, промывочные картриджи имеют цветовую маркировку, предотвращающую ошибки при загрузке. Центральная лунка промывочного картриджа SBS предназначена для разбавленного раствора Tween 20. Разбавленный раствор NaOCl вносят в резервуар кластерного картриджа для промывки.

Рисунок 28. Промывочный картридж SBS (слева) и кластерный картридж для промывки (справа)



Приготовление промывочного раствора

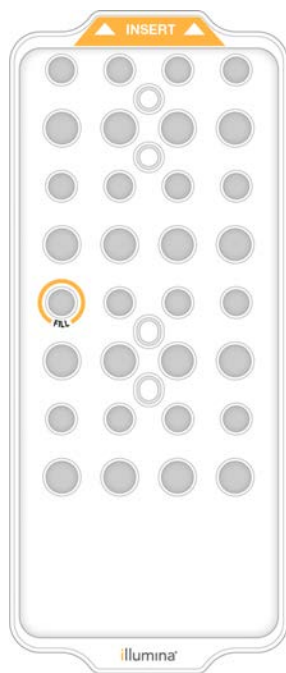
- 1 Добавьте 400 мл воды лабораторного класса в бутылку для центрифугирования объемом 500 мл.
- 2 Добавьте 0,2 мл 100-процентного препарата Tween 20 и получите по меньшей мере 400 мл 0,05-процентного промывочного раствора Tween 20.
Использование свежеприготовленного разбавленного раствора Tween 20 предотвращает проникновение биологических загрязнителей в жидкостную систему.
- 3 Переверните для перемешивания содержимого.
- 4 Снимите крышку с центрального углубления промывного картриджа SBS.
- 5 Влейте в центральное углубление промывочный раствор. Заполните ее до линии заполнения, указывающей минимальный необходимый объем.
Остальные резервуары остаются пустыми.

Рисунок 29. Центральное углубление заполняют до линии MIN FILL VOLUME (МИНИМАЛЬНЫЙ ОБЪЕМ ЗАПОЛНЕНИЯ)



- 6 Для приготовления 20 мл 0,25-процентного раствора NaOCl объединяют следующие объемы в пробирке для центрифугирования объемом 30 мл:
 - ▶ NaOCl 5 % (1 мл);
 - ▶ деионизированная вода (19 мл).
- 7 Переверните для перемешивания содержимого.
- 8 Добавьте 5 мл 0,25-процентного раствора NaOCl в кластерный картридж для промывки. Место отмечается надписью Fill (Заполнено) и обводится оранжевой окружностью. Все остальные резервуары остаются пустыми.

Рисунок 30. Положение для 0,25-процентного раствора NaOCl



Загрузите промывную проточную кювету

- 1 Снимите все посторонние предметы с поверхности прибора.
Все поверхности во время профилактической промывки должны оставаться чистыми; не опирайтесь на прибор. Давление на дверцу проточной кюветы может привести к ее открытию, что станет причиной остановки промывки.
- 2 На главной странице выберите **Wash** (Промывка), а затем выберите, какую из сторон промывать.
 - ▶ **A + B** — промывайте обе стороны одновременно.
 - ▶ **A** — промывайте только сторону A.
 - ▶ **B** — промывайте только сторону B.
 Программное обеспечение откроет ряд экранов промывки.



ПРИМЕЧАНИЕ

Профилактическая промывка для одной стороны может быть начата только тогда, когда вторая сторона либо простаивает, либо выполняет циклы считывания SBS. Время ступенчатого запуска в программном обеспечении NVCS указывает на доступность прибора для запуска нового цикла или промывки. См. раздел *«Ступенчатый запуск циклов»* на стр. 64.

- 3 Выберите **OK**, чтобы принять предупреждение к сведению и открыть дверцу проточной кюветы.
- 4 Если промывная проточная кювета или использованная проточная кювета с четырьмя дорожками не установлены, установите их.
- 5 Нажмите **Close Flow Cell Door** (Закрыть дверцу проточной кюветы).
Дверца закроется, датчики и RFID будут проверены, на экране появится идентификационный номер проточной кюветы .

Загрузка промывочных картриджей

Для выполнения профилактической промывки необходимы промывочные картриджи. Не применяйте использованные картриджи SBS или кластерные картриджи.

- 1 Откройте створчатую дверку отсека для жидкостей, а затем откройте дверцу холодильника реактивов.
- 2 Извлеките использованный картридж SBS и картридж с реактивами для получения кластеров. Утилизируйте неизрасходованное содержимое в соответствии с применимыми стандартами. О том, как безопасно утилизировать резервуар в положении № 30 кластерного картриджа, см. в разделе «*Отсоединение положения № 30*» на стр. 65.
- 3 Загрузите промывочные картриджи в ящик холодильника для реактивов так, чтобы бирки с надписью **Insert** (Вставить) были направлены к задней части прибора.
 - ▶ Поместите картридж SBS (серая бирка) в левое положение.
 - ▶ Поместите кластерный картридж (оранжевая бирка) в правое положение.
- 4 Вставьте ящик в холодильник, а затем закройте дверцу холодильника для реактивов. Проверяются датчики, и RFID каждого из картриджей сканируется и отображается на экране.
- 5 Откройте ящик для буферных реактивов.
- 6 Если картридж с буфером пока не загружен, загрузите его.

Слив из бутылей для использованных реактивов

Бутыли с использованными реактивами необходимо опорожнять при **каждой** профилактической промывке. При выполнении этого действия руководствуйтесь следующей инструкцией. Даже если система сконфигурирована для вывода использованных реактивов наружу, использованные реактивы будут собираться в малой бутылки, а большая бутылка также должна быть установлена.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Этот комплект реактивов содержит потенциально опасные химические вещества. Существует опасность нанесения вреда здоровью при вдыхании, приеме внутрь, попадании на кожу или в глаза. Используйте соответствующие опасности средства индивидуальной защиты, включая защитные очки, перчатки и лабораторный халат. К использованным реактивам нужно относиться как к химическим отходам и утилизировать их в соответствии с действующими региональными, национальными и местными законодательными и нормативными актами. Подробную информацию об окружающей среде, охране здоровья и технике безопасности см. в паспорте безопасности на веб-сайте support.illumina.com/sds.html.

- 1 Снимите малую бутылку с использованными реактивами и утилизируйте содержимое согласно применимым стандартам. Содержимое этого резервуара нельзя смешивать с содержимым других бутылей.
- 2 Вставьте малый контейнер для использованного реактива в углубление.
- 3 Снимите большую бутылку с использованными реактивами и утилизируйте содержимое согласно применимым стандартам.
- 4 Вставьте большую бутылку для использованных реактивов в ящик для буферных растворов.
- 5 Наденьте новую пару неопудренных перчаток.
- 6 Закройте ящик буферного отсека и задвиньте дверцу отсека для жидкостей.

Проверяются датчики и RFID. На экране появятся идентификационные номера каждого из компонентов для промывки.

Запуск промывки

- 1 Установите флажок, подтверждающий опорожнение обеих бутылей для использованных реактивов, затем нажмите **Start Wash** (Начать промывку). Начнется промывка, и на дисплее отобразится примерное время промывки.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

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

- 2 По завершении промывки выберите **Home** (Главная страница).
- 3 Оставьте расходные материалы на месте до следующего цикла. Сипперные трубки остаются в картридже SBS и кластерном картридже во избежание попадания воздуха в систему. Сипперные трубки в картридже с буфером поднимаются настолько, чтобы можно было опорожнить бутыли для использованных реактивов.

Обновление программного обеспечения

Обновление программного обеспечения доступно для ПО NVCS версии 1.4 или более поздней. Обновления программного обеспечения можно загружать и устанавливать из NVCS. По умолчанию функция автоматической проверки обновлений программного обеспечения включена. Автоматическое обновление можно включить или выключить через меню Settings (Настройки).



ПРИМЕЧАНИЕ

Для проверки и загрузки обновлений программного обеспечения система NovaSeq 6000 должна быть подключена к сети Интернет.

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

Перед началом подготовки образцов или расходных материалов для рабочего процесса NovaSeq Xr проверьте, что версия ПО NVCS удовлетворяет минимальным системным требованиям к программному обеспечению, указанным в следующей таблице.

Таблица 20. Минимальные системные требования к программному обеспечению

Проточная кювета	Минимальная версия программного обеспечения
SP	1.6
S1	1.3.1
S2	Все
S4	1.2.0



ПРИМЕЧАНИЕ

Если выполняются цикл секвенирования, промывка, настройка цикла или передача файла в папку выходных данных или BaseSpace Sequence Hub, выполнить обновление программного обеспечения невозможно. Если выполняется рабочий процесс NovaSeq Xr, не обновляйте программное обеспечение, пока библиотеки не будут загружены в проточную кювету и секвенирование не завершится.

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

- 1 В основном меню выберите **Software Update** (Обновление программного обеспечения).
Отображается страница экрана Software Update (Обновление программного обеспечения), на которую выводятся уведомления для имеющихся обновлений. 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.
- 3 Выберите **Download and Install** (Загрузить и установить).
Когда загрузка завершится, NVCS закроется и будет запущена программа-установщик.
При выполнении установки следуйте инструкциям установщика.
Если во время загрузки или установки произошли ошибки, обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.

Приложение А. Поиск и устранение неисправностей

Ресурсы поиска и устранения неисправностей	73
Файлы поиска и устранения неисправностей	73
Ошибки проверок перед циклом	73
Управление процессом: поиск и устранение неисправностей	74
Неудача цикла до кластеризации	75
Окончание цикла	76
Выключение прибора	77

Ресурсы поиска и устранения неисправностей

Ответы на вопросы технического характера можно найти на страницах поддержки системы секвенирования [NovaSeq 6000 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 MyIllumina.

В случае проблем с качеством или показателями работы цикла обращайтесь в отдел технической поддержки компании Illumina. См. раздел *«Техническая помощь»* на стр. 95. Чтобы облегчить поиск и устранение неисправностей, не забудьте предоставить отделу технической поддержки компании Illumina ссылку на сводку по циклу в BaseSpace Sequence Hub.

Файлы поиска и устранения неисправностей

Основной файл	Папка	Описание
Файл с информацией о цикле (RunInfo.xml)	Корневой каталог	Содержит настройки цикла: <ul style="list-style-type: none">• число циклов в цикле секвенирования;• число считываний в цикле секвенирования;• индексировано ли считывание;• число полос и плиток в проточной кювете.
Файл параметров цикла (RunParameters.xml)	Корневой каталог	Содержит название цикла и информацию о параметрах и компонентах цикла, включая следующую информацию о RFID: серийные номера, номера партий, срок годности и номера по каталогу.
Файлы InterOp (*.bin)	InterOp	Бинарные файлы отчета, используемые программой Sequencing Analysis Viewer. Файлы InterOp обновляются по мере выполнения цикла.
Файлы журнала	Журналы	Файлы журналов описывают каждый шаг, выполненный прибором для каждого цикла, включая то, какие реактивы использовались, и содержат список версий программного и аппаратного обеспечения, использовавшихся для цикла. Файл с именем [НазваниеПрибора]_CurrentHardware.csv содержит список серийных номеров компонентов прибора.

Ошибки проверок перед циклом

Если во время проверок перед циклом возникает ошибка, примите следующие меры для ее устранения. Если настроен цикл с двойной проточной кюветой и одна сторона не отработала, можно отменить работу со сбойной стороной кюветы и продолжить цикл для той стороны, которая отработала нормально.

Если система не проходит проверку перед циклом, то RFID проточной кюветы, реактивов 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 реактивов, после чего все RFID блокируются.

Проверка системы	Причина сбоя	Рекомендованное действие
Датчики	Дверь отсека открыта, расходный материал загружен ненадлежащим образом, или по меньшей мере один датчик не работает.	Выберите Retry (Повтор) и выполните действия в соответствии с возникающими на экране подсказками, чтобы устранить ошибку.
Дисковое пространство	Дискового пространства не хватает, поскольку в указанном для хранения выходного файла месте память переполнена.	Воспользуйтесь экраном управления процессом для очистки дискового пространства в указанном местоположении папки выходных данных.
Связь в системе	Связь с RTA3, жидкостной системой или другая связь в системе прервана.	Выберите Retry (Повтор) и выполните действия в соответствии с возникающими на экране подсказками, чтобы устранить ошибку.
Соосность	Положение проточных кювет не позволяет их визуализировать.	Следуйте экранным подсказкам и перезагрузите проточную кювету.

Поддон для сбора утечек

Поддон для сбора утечек встроен в основание прибора. Он предназначен для сбора подтекающих реактивов или охлаждающего агента, а также собирает переливающуюся жидкость из бутылей использованных реактивов. 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 реактивами 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 мешает приступить к выполнению цикла, но вам нужно будет обязательно связаться с отделом технической поддержки компании Illumina. См. раздел *«Техническая помощь»* на стр. 95.
- ▶ Если поддон полон, это не позволит приступить к выполнению цикла и вам нужно будет обязательно связаться с отделом технической поддержки компании Illumina.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Бутыли для использованных реактивов нужно опорожнять **при каждом цикле**. При заполнении любой из бутылей для использованных реактивов циклы секвенирования будут останавливаться. Переполнение любой бутыли использованных реактивов приведет к повреждению прибора, что потребует посещения места установки прибора представителем Illumina и создаст 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 «Не применимо».

- ▶ Значок «Не применимо» отображается в столбце BaseSpace, и цикл сконфигурирован таким образом, чтобы файлы выгружались в BaseSpace Sequence Hub.

- ▶ Значок «Не применимо» отображается в столбце Network (Сеть), и цикл сконфигурирован таким образом, чтобы файлы выгружались в папку выходных данных в сетевом расположении.

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

Если значок «Не применимо» по-прежнему отображается после того, как вы выполнили все действия по устранению неисправности, обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina. См. раздел «[Техническая помощь](#)» на стр. 95.

Неудача цикла до кластеризации

Если программное обеспечение сталкивается с неудачей цикла до начала кластеризации, можно сохранить картриджи реактива, пробирку для библиотеки (вместе с образцом) и проточную кювету (при условии немедленного использования ее для нового цикла секвенирования). При начале этапа кластеризации сипперы прокалывают укупорку из фольги и реактивы переносятся в пробирку для библиотеки и в проточную кювету, поэтому такие расходные материалы и библиотеки становятся непригодны для другого цикла секвенирования.

Существуют два варианта подготовки нового цикла с использованием картриджа реактивов, пробирки с библиотекой и проточной кюветы, сохраненных после неудачного цикла.

- ▶ **Настройка нового цикла немедленно** — настройка нового цикла в течение 4 часов после неудачного цикла. Картриджи реактивов, пробирка для библиотеки и проточная кювета остаются загруженными.



ПРИМЕЧАНИЕ

Для получения оптимальных результатов рабочего процесса NovaSeq Xr новый цикл секвенирования следует начать как можно быстрее.

- ▶ **Настройка нового цикла позднее** — настройка нового цикла в течение трех недель после неудачного цикла. Картриджи реактивов и пробирку библиотеки выгружают из прибора и помещают на хранение. Сохраненные расходные материалы необходимо маркировать с указанием даты и поместить на хранение в исходные условия.



ПРИМЕЧАНИЕ

Проточную кювету повторно использовать будет нельзя, ее следует утилизировать. Для получения сменной проточной кюветы обратитесь в службу технической поддержки Illumina.

Настройка нового цикла немедленно

Если неудача цикла произошла при выполнении рабочего процесса NovaSeq Xr, для получения оптимального результата запустите новый цикл как можно быстрее.

- 1 Если произошла неудача цикла, а другая сторона прибора находилась в холостом режиме, перезагрузите прибор. В противном случае выберите **Home** (Исходное состояние).
- 2 Настройте новый цикл.
- 3 Оставьте установленную проточную кювету на месте.

- 4 Откройте и закройте дверцу холодильника реактивов и ящика буферных растворов, чтобы сообщить программному обеспечению NVCS о необходимости повторно считать RFID картриджа реактивов.
Картриджи, пробирка для библиотеки и проточная кювета могут оставаться в приборе до истечения 4 часов после неудачного цикла.
- 5 При необходимости опорожните бутылки для использованных реактивов и вновь установите их в прибор.
- 6 Перейдите к настройке цикла.

Настройка нового цикла позднее

- 1 При неудаче цикла выберите **Home** (Исходное состояние).
- 2 Чтобы извлечь расходные материалы из прибора, настройте новый цикл или профилактическую промывку.
- 3 При появлении сообщения извлеките и сохраните следующие расходные материалы.
 - ▶ Закройте пробирку с библиотекой и храните при температуре от -25 до -15 °C 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 фольга не проколота, картриджи можно использовать повторно в новом цикле секвенирования.
- 4 Выберите **End** (Конец), чтобы отменить цикл или профилактическую промывку, затем выберите **Yes** (Да) для подтверждения команды.
Можно не отменять профилактическую промывку, а дать ей завершиться.

Окончание цикла

Если прибор NovaSeq 6000 завершает цикл, это **окончательно**. Программное обеспечение не может возобновить цикл или сохранить данные секвенирования, невозможно будет также повторно использовать расходные материалы.

- 1 Выберите вариант **End** (Завершить цикл), а затем выберите **Yes** (Да), чтобы подтвердить команду.
Если цикл завершен после этапа Read 1, программное обеспечение начнет автоматическую промывку после цикла.
- 2 Если будет предложено, следует выбрать возможный вариант промывки.
 - ▶ **End Run Without Wash** (Завершить цикл без промывки) — завершение цикла и инициирование профилактической промывки.
 - ▶ **End Run and Wash** (Завершить цикл и промыть) — завершение цикла и выполнение автоматической промывки после цикла.
 - ▶ **Cancel** (Отмена) — продолжение текущего цикла.Если завершение цикла приходится на промежуток между окончанием кластеризации и завершением считывания Read 1, то программное обеспечение отображает допустимые варианты промывки. В иных случаях программное обеспечение начнет автоматическую промывку после цикла.

- 3 При выборе варианта End Run Without Wash (Завершить цикл 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.

Если во время работы ПО NVCS будет инициировано завершение работы или перезапуск, пользователь должен подтвердить данное действие, прежде чем будет продолжено завершение работы или перезапуск.

- 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 не менее 60 секунд, прежде чем снова включать прибор.



ОСТОРОЖНО!

Запрещается перемещать прибор. Неправильное перемещение может повлиять на центровку оптической системы и нарушить целостность данных. Если вам нужна помощь в вопросе перемещения устройства, свяжитесь с вашим представителем компании Illumina.

Приложение В. Анализ в режиме реального времени

Обзор программного обеспечения Real-Time Analysis	78
Рабочий процесс анализа в режиме реального времени	80

Обзор программного обеспечения Real-Time Analysis

Система секвенирования NovaSeq 6000 использует RTA3, вариант программного обеспечения анализа в режиме реального времени (Real-Time Analysis) на вычислительном ядре прибора (CE). RTA3 извлекает значения интенсивности из изображений, полученных с камеры, выполняет распознавание оснований, присваивает распознанным основаниям баллы качества, сводит результаты с PhiX и создает отчеты в файлах InterOp для их просмотра в программе просмотра анализов секвенирования.

С целью оптимизации времени обработки данных RTA3 сохраняет информацию в памяти. Если RTA3 прерван, обработка не возобновляется и все данные цикла, которые были обработаны в памяти, теряются.

Входные данные для RTA3

Для работы RTA3 необходимы изображения плиток, содержащиеся в памяти локальной системы. RTA3 получает информацию о цикле и команды от программного обеспечения NVCS.

Файлы выводимых данных RTA3

Изображения по каждому цветовому каналу переносятся в память для RTA3 по плиткам. Из этих изображений средствами RTA3 создаются файлы распознавания оснований с оценкой качества и файлы фильтра. Все остальные файлы результатов представляют собой вспомогательные файлы.

Тип файла	Описание
Файлы распознанных оснований	Каждая плитка, которая анализируется, включается в файл связанных результатов распознавания оснований (*.cbcl). Плитки, принадлежащие одной и той же дорожке и поверхности, агрегируются в один и тот же файл *.cbcl для каждой дорожки и поверхности.
Файлы фильтра	Каждой плитке соответствует файл фильтра (*.filter), в котором указывается, проходит ли кластер через фильтры.
Файлы расположения кластера	Файлы расположения кластера (*.locs) содержат координаты X, Y каждого кластера в плитке. Местоположение кластеров генерируется для каждого цикла.

Выходные файлы используются для последующего анализа в BaseSpace Sequence Hub. Кроме того, можно использовать программное обеспечение конвертации bcl2fastq для преобразования 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 [bcl2fastq — материалы для скачивания](#) 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 скачивания](#) на веб-сайте Illumina.

Обработка ошибок

Программное обеспечение RTA3 создает файлы журнала и записывает их в папку Logs. Ошибки записываются в текстовый файл в формате *.log.

В конце обработки в окончательное место расположения выходных данных переносятся следующие файлы журнала:

- ▶ info_00000.log — сводка важных событий в цикле;
- ▶ error_00000.log — список ошибок, возникших в ходе цикла;
- ▶ warning_00000.log — содержит предупреждения, выданные в ходе цикла.

Плитки проточной кюветы

Плитки — это небольшие участки визуализации на поверхности проточной кюветы. 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 в проточной кювете.

- ▶ Проточные кюветы SP содержат 312 плиток.
- ▶ Проточные кюветы S1 содержат 624 плитки.
- ▶ Проточные кюветы S2 содержат 1408 плиток.
- ▶ Проточные кюветы S4 содержат 3744 плитки.

Таблица 21. Плитки проточной кюветы

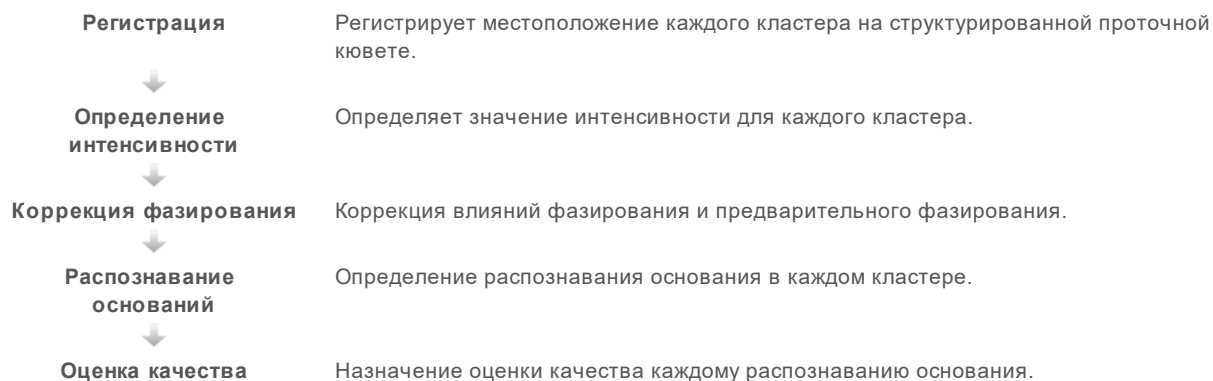
Компонент проточной кюветы	SP	S1	S2	S4	Описание
Дорожки	2	2	2	4	Дорожка — это физический канал с портами входа и выхода.
Поверхности	1	2	2	2	Проточные кюветы S1, S2 и S4 визуализируются по двум поверхностям: верхней и нижней. Вначале выполняется визуализация верхней поверхности плиток. Проточная кювета SP визуализируется только по нижней поверхности.
Полос на дорожку	2	2	4	6	Полоса — это столбец в дорожке проточной кюветы, изображение которого захватывается камерой при получении одного снимка.
Плиток на полосу	78	78	88	78	Плитка — это часть полосы, она составляет визуализируемую площадь проточной кюветы.
Общее количество создаваемых плиток	312	624	1408	3744	Общее количество плиток равно произведению количества дорожек, количества поверхностей, количества полос и количества плиток в полосе.

Присвоение названий плиткам

Название плитки представляет собой пятизначный номер, который соответствует положению плитки на проточной кювете. Например, название плитки 1_1205 означает, что она расположена на дорожке 1 верхней поверхности, полосе 2 и имеет номер плитки 5.

- ▶ Первая цифра представляет собой номер дорожки.
 - ▶ 1 или 2 для проточной кюветы SP, S1 или S2.
 - ▶ 1, 2, 3 или 4 для проточной кюветы S4.
- ▶ Вторая цифра обозначает поверхность: 1 — верхняя, 2 — нижняя.
Для проточной кюветы SP вторая цифра всегда 2, так как у этой кюветы имеется только нижняя поверхность.
- ▶ Третья цифра обозначает номер полосы.
 - ▶ 1 или 2 для проточной кюветы SP или S1.
 - ▶ 1, 2, 3 или 4 для проточной кюветы S2.
 - ▶ 1, 2, 3, 4, 5 или 6 для проточной кюветы S4.
- ▶ Последние две цифры обозначают номер плитки. Нумерация начинается с 01 на выходном конце проточной кюветы и заканчивается 88 или 78 на входном конце.
 - ▶ От 01 до 78 для проточной кюветы SP, S1 или S4.
 - ▶ От 01 до 88 для проточной кюветы S2.

Рабочий процесс анализа в режиме реального времени



Регистрация

Регистрация привязывает изображение к гексагональной схеме нанолунок на структурированной проточной кювете. Из-за упорядоченного характера расположения нанолунок координаты X и Y для каждого кластера в плитке заданы заранее. Положения кластеров записываются в файл расположения кластеров (*.locs) для каждого цикла секвенирования.

Если происходит ошибка регистрации для любого изображения в цикле, для этой плитки в данном цикле распознавание оснований не производится. Воспользуйтесь программой просмотра анализов для определения того, какие изображения не удалось зарегистрировать.

Определение интенсивности

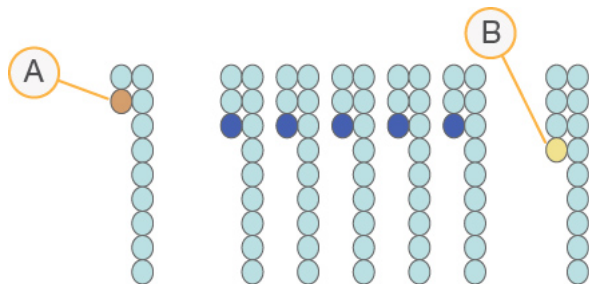
После регистрации функция определения интенсивности выполняет вычисление значения интенсивности для каждой нанолунки на данном изображении. Если регистрация прошла неудачно, интенсивность для данной плитки не определяется.

Коррекция фазирования

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

- ▶ Фазирование происходит, когда длина цепочки оснований отстает.
- ▶ Предварительное фазирование происходит, когда к цепочке присоединяются лишние основания.

Рисунок 31. Фазирование и предварительное фазирование



A Считывание с основанием в случае фазирования.

B Считывание с основанием в случае предварительного фазирования.

Программа RTA3 позволяет исправлять эффекты фазирования и предварительного фазирования, что повышает качество данных на каждом отдельном цикле на протяжении общего цикла секвенирования.

Распознавание оснований

В процессе распознавания оснований определяется основание (A, C, G или T) для каждого кластера данной плитки в указанном цикле. В системе секвенирования с применением системы NovaSeq 6000 используется двухканальное секвенирование, для которого нужны только два изображения для кодирования всех четырех оснований ДНК: одно изображение из красного канала и одно из зеленого.

Нераспознанные основания идентифицируются буквой N. Нераспознавание имеет место, если кластер не проходит фильтр, происходит сбой в регистрации или кластер сдвинут 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 основанию. Процесс распознавания нуклеотидных оснований определяет, к какой популяции принадлежит каждый кластер.

Рисунок 32. Визуализация интенсивностей кластера

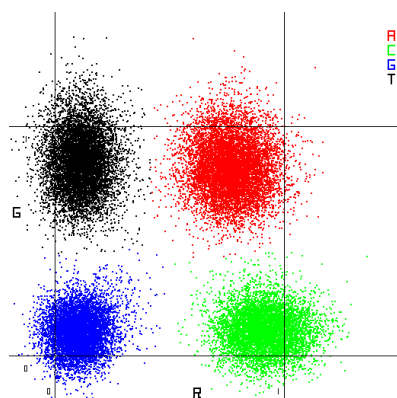


Таблица 22. Распознавание оснований при двухканальном секвенировании

Основание	Красный канал	Зеленый канал	Результат
A	1 (есть)	1 (есть)	Кластеры, дающие интенсивный сигнал и в красном, и в зеленом каналах.
C	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 кластера.
T	0 (нет)	1 (есть)	Кластеры, дающие интенсивный сигнал только в зеленом канале.

Кластеры, проходящие фильтр

Во время цикла RTA3 отфильтровывает исходные данные, удаляя результаты считывания, не соответствующие порогу качества данных. Перекрывающиеся кластеры и кластеры низкого качества удаляются.

Для двухканального анализа при определении чистоты распознавания нуклеотидов (измерении чистоты интенсивности) RTA3 использует систему на популяционной основе. Кластеры проходят фильтр (PF), если в первых 25 вложенных циклах не более одного основания распознано с чистотой ниже заданного порога. Сверка по PhiX выполняется во вложенном цикле номер 26 для подгруппы плиток тех кластеров, которые прошли через фильтр по качеству. Кластеры, не прошедшие через фильтр, не подвергаются распознаванию оснований, и сверка по ним не производится.

Показатели качества

Оценка качества (Q-score) является прогнозом вероятности неточного распознавания основания. Чем выше балл Q-score, тем выше качество распознавания основания и тем вероятнее, что основание будет распознано правильно. После определения баллов Q-score результаты регистрируются в файлах распознавания оснований (*.cbcl).

В баллах Q-score в краткой форме представлены вероятности малых ошибок. Показатели качества имеют вид Q (X), где X — это балл. В приведенной ниже таблице показана связь между показателем качества и вероятностью ошибки.

Q-Score 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 распознавания оснований, а затем значения предикторов используются для определения Q-score по таблице качества. Таблицы качества были созданы для обеспечения оптимально точного прогноза качества для циклов секвенирования, выполняемых с использованием конкретных конфигураций платформ секвенирования и версий химических реакций.



ПРИМЕЧАНИЕ

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 отчетности по оценкам Q-score уменьшает требования к полосе пропускания и необходимому количеству памяти для хранения данных, но при этом не влияет на точность или рабочие показатели процесса.

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


Приложение С. Выходные папки и файлы

Структура папок выходных данных секвенирования	84
Выходные файлы секвенирования	85

Структура папок выходных данных секвенирования

Программное обеспечение NVCS создает название папки выходных данных автоматически.


 **Config** — настройки конфигурации цикла.

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

 **Data**

 **Intensities**

 **BaseCalls**


 **L00[X]** — файлы распознавания оснований (*.cbcl), агрегированные по одному файлу на каждую дорожку, поверхность и цикл.

 S.locs — местоположения файлов кластеров для цикла.

 **InterOp** — бинарные файлы отчета, используемые программой Sequencing Analysis Viewer.

 **Recipe** — файл с набором параметров, характерным для данного цикла.

 **Thumbnail Images** — миниатюры изображений каждой 10-й плитки.

 **LIMS** — файл настройки цикла (*.json), если применимо.

 RTA3.cfg

 RunInfo.xml

 RunParameters.xml

 RTAComplete.txt

 CopyComplete.txt

 SampleSheet.csv — протокол анализа или иной прикрепленный файл, если применимо.

 SequenceComplete.txt

Выходные файлы секвенирования

Тип файла	Описание, место расположения и название файла
Файлы распознанных оснований	Каждый анализируемый кластер включает файл распознанных оснований, агрегированный в один файл по каждому циклу, дорожке и поверхности. Объединенные файлы содержат информацию о распознавании основания и закодированной оценке качества для каждого кластера. Файлы распознавания оснований используются BaseSpace Sequence Hub или bcl2fastq2. Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 L[дорожка]_[поверхность].cbcl , например L001_1.cbcl
Файлы расположения кластера	Бинарный файл локализации кластеров для каждой проточной кюветы содержит координаты X, Y кластеров в заголовке. Координаты определяются по сетке шестиугольников, соответствующей схеме расположения нанолунок проточной кюветы. Data\Intensities s_[Дорожка].locs
Файлы фильтра	Файлы фильтра определяют кластеры, прошедшие через фильтры. Файлы фильтра создаются на 26-м цикле с использованием данных 25 циклов. Для каждой плитки генерируется один файл фильтра. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[дорожка]_[плитка].filter
файлы InterOp	Бинарные файлы отчета, используемые программой Sequencing Analysis Viewer. Файлы InterOp обновляются по мере выполнения цикла. Папка InterOp
Файл с информацией о цикле	Перечисляет название цикла секвенирования, количество циклов для каждого считывания, указывает, когда считывание является индексированным считыванием, а также число полос и плиток проточной кюветы. Файлы сведений о цикле секвенирования создаются в начале секвенирования. [Корневая папка], RunInfo.xml
Файлы миниатюр	Когда возможность работы с файлами миниатюр включена, создается миниатюрное изображение каждой 10-й плитки каждого цветового канала (красного и зеленого). Thumbnail_Images\L001\C[X.1] — файлы для каждого цикла хранятся в отдельных подпапках. S_[дорожка]_[плитка]_[канал].jpg — изображение-миниатюра включает номер плитки.

Приложение D. Безопасность Windows

Конфигурации системы безопасности	86
Требования к паролям	86
Брандмауэр Windows	86
Набор технических средств для расширения возможностей по смягчению последствий ..	87
Политики ограниченного использования программ	87

Конфигурации системы безопасности

Операционная система Windows, которая обеспечивает работу управляющего компьютера прибора, имеет настройки безопасности, которые не позволяют нежелательному программному обеспечению работать. Информация, приведенная в данном приложении, описывает соответствующие настройки и то, каким образом их можно привести в соответствие с вашими потребностями.

При нормальных условиях работы нет необходимости менять принятые по умолчанию настройки безопасности. Если такие изменения все же будут необходимы, удостоверьтесь в том, что изменения проводит опытный системный администратор и что он тщательно спланировал процесс.



ОСТОРОЖНО!

Поскольку эти настройки влияют на рабочие параметры системы и могут ухудшить безопасность системы, обращайтесь в службу технической поддержки компании Illumina, если неясно, нуждаются ли настройки в редактировании, или когда воздействие изменений неизвестно.

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 23. Правила задания паролей, принятые по умолчанию

Правило	Настройка безопасности
Включить запоминание паролей	Запоминание 5 паролей
Максимальный срок действия паролей	180 дней
Минимальный срок действия паролей	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 по умолчанию блокирует все входящие соединения. Оставьте брандмауэр включенным и разрешите

исходящие соединения. Для получения дополнительных сведений об исходящих соединениях см. «Руководство по подготовке рабочего места для системы серии NovaSeq» (документ № 1000000019360).

Набор технических средств для расширения возможностей по смягчению последствий

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

Политики ограниченного использования программ

Политики ограниченного использования программ (SRP) в операционной системе Windows содержат правила, которые позволяют работать только определенным видам ПО. Для прибора NovaSeq 6000 правила SRP основываются на сертификатах, названиях и расширениях файлов, а также на директориях.

По умолчанию SRP включены во избежание запуска нежелательного программного обеспечения на управляющем компьютере. Представитель отдела ИТ или системный администратор могут добавлять и удалять правила, выполняя индивидуальную настройку уровня защиты. Если система добавлена в домен, местные объекты групповой политики (GPO) могут автоматически изменить правила и отключить SRP.



ОСТОРОЖНО!

Отключение правил, ограничивающих использование программного обеспечения, снимает защиту, которую эти правила обеспечивают. Изменение правил приводит к тому, что выставленная по умолчанию защита будет обойдена.

Разрешенные правила политики ограниченного использования программ (SRP)

В системе секвенирования NovaSeq 6000 правила SRP по умолчанию разрешают следующее.

Сертификаты
DigitalSystems
Illumina, Inc.
NovaSeq

Исполняемые файлы
Portmon.exe
Procmon.exe
Procmon64.exe
Tcpview.exe

Расширения файлов
*.bin
*.cbcl
*.cfg
*.config
*.csv
*.dat

Расширения файлов

- *.focus
- *.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.



ОСТОРОЖНО!

Выключение SRP приводит к обходу защит, принятых по умолчанию.

- 1 Войдите в операционную систему.
- 2 Выключение SRP:
 - a перейдите в директорию **C:\Illumina\Security**;
 - b дважды нажмите на файл **Disable.reg**;
 - c выберите опцию **Yes** (Да) для подтверждения команды.

При использовании интерфейса сенсорного экрана нажатие и удержание в течение примерно 2 секунд эквивалентно нажатию правой кнопки мыши.

- 3 Нажмите **Start** (Пуск), затем **Run** (Цикл).
- 4 В поле Open (Открыто) введите **secpol.msc**.

- 5 В диалоговом окне Local Security Policy (Местные правила безопасности) разверните опцию **Software Restriction Policies** (Политики ограниченного использования программ), а затем выберите **Additional Rules** (Дополнительные правила).
- 6 Добавление правила:
 - a в меню Action (Действия) выберите опцию **New Path Rule** (Новое правило пути);
 - b в поле Path (Путь) укажите сертификат, название файла, расширение файла или директорию, использование которой вы хотите разрешить;
 - c в списке Security level (Уровень защиты) выберите вариант **Unrestricted** (Без ограничений);
 - d **[дополнительно]** в поле Description (Описание) задайте причину, по которой создается правило;
 - e нажмите **ОК** и добавьте правило.
- 7 Удаление правила:
 - a выберите правило, которое хотите удалить, а затем выберите опцию **Delete** (Удалить);
 - b выберите опцию **Yes** (Да) для подтверждения удаления.
- 8 Закройте диалоговое окно Local Security Policy (Местные правила безопасности).
- 9 **Немедленно** восстановите SRP:
 - a перейдите в директорию C:\Illumina\Security;
 - b дважды нажмите на файл **Enable.reg**.
- 10 Если изменения в правила SRP вносились впервые, выйдите из системы, а затем снова войдите в нее, чтобы новые правила вступили в силу.

Алфавитный указатель

%

% PF 32, 42
%PF 82

B

BaseSpace Enterprise 27
BaseSpace Sequence Hub 1, 28
 поддержка 3
 подключение и отключение 59
bcl2fastq2 28, 78

C

CE 78

E

EMET 87
ExAmp Master Mix 3

G

GPO 87

L

LIMS 1, 22

N

NaOCl 66, 68
NovaSeq Xp, определенный 4

P

PhiX
 добавление 37, 48
 номер по каталогу 29

R

Read 1 76
RFID 13

RunInfo.xml 73, 85

T

Tween 20 68

W

Windows
 безопасность 87

A

автоматические проверки 73
алгоритм Phred 83
амплификация 3
анализ 28
анализ в реальном времени 1
анализ в режиме реального времени 9
аналитические отчеты 83

B

безопасность 87
 настройка 88
белый список, SRP 87
библиотеки
 количественная оценка 32, 42
 контроль качества 32, 42
 разбавление 39, 49
 хранение 39, 49, 76
бирки, компоненты комплекта 12
брандмауэры 86
буферный отсек 58
бюллетени поддержки 73

B

веб-сайт, поддержка 73
визуализация 3, 14, 78-79
включение 21
вложенные циклы секвенирования 63
водяные бани 33, 43
возобновление циклов 76
входные лунки 18
входящие соединения 86
выгрузка картриджей реактивов 57
выключение питания 77

выход 63
вычислительное ядро 10, 65, 78

Г

генерирование шаблона 80
гидроксид натрия, разбавление 38, 49
гипохлорит натрия 68

Д

данные о производительности прибора 23
данные о работоспособном состоянии
прибора 23
датчики 6, 70, 73
двухканальное секвенирование 81
действия после цикла 66
держатель крышки 34, 44
держатель проточной кюветы 55
диагностика 6
дисковое пространство 10, 73
длительности
генерация кластеров 63
цикл секвенирования. 63
длительность
автоматическая промывка после
цикла 66
профилактическая промывка 67
длительность кластеризации 63
длительность цикла 63
добавление, PhiX 37, 48
доверенный сертификат 87
документация 2, 95
домен, BaseSpace Sequence Hub 27
дорожки 14, 79

Ж

жесткий диск 10, 23, 65
жидкостная система 9, 68
журналы ошибок 79

З

загрузочная концентрация 3, 32, 42
загрузочный объем 3
зажимы, проточная кювета 6
зеленый канал 81
значения интенсивности 80
значки 10, 19

значки, мигающие 9

И

изменение места расположения прибора 77
изображения 78
инициализация 21
интенсивность кластеров 80
использованные реактивы 34, 44, 57
используемые реактивы 8
исходящие соединения 86

К

калькулятор пула 36, 47
калькулятор, приготовление пула 36, 47
камеры 1, 6, 79
картридж с буфером 58, 70
картриджи
укладывание друг на друга 16
картриджи для реактивов
бирки 15
картриджи реактива
маркировка 12
картриджи реактивов
выгрузка 57
хранение 75
картриджи с реактивами
подготовка 33, 43
хранение 13
качество данных 82
кластерный картридж 14
кластеры, проходящие сквозь фильтр 63
кластеры, проходящие через фильтр 32, 42
код партии 19
количественная оценка 32, 42
количество циклов 60, 63
коллекторы NovaSeq Xp 50
хранение 17
комплект программного обеспечения 9
компоненты комплекта 30
конверсия FASTQ 78
контроль качества 32, 42
конфигурации комплекта 12
красный канал 81

Л

лунки коллектора NovaSeq Xp,
нумерация 18

М

места расположения кластеров 85
 местоположение кластеров 78
 метка RFID 73
 методы анализа 3
 мигающие значки 9
 миниатюры 85
 мишень центровки оптической системы 6, 55

Н

название папки выходных данных 84
 нанолунки 80
 нарушение соосности 73
 настройка LIMS 23
 настройки анализа 22
 настройки безопасности 86
 настройки по умолчанию 23, 27
 настройки цикла 22
 настройки, безопасность 86
 натрия гипохлорит 66
 нераспознанные основания 81
 номера деталей 19
 номера по каталогу 12
 расходные материалы, приобретаемые
 пользователем 29
 нормализация 35, 46
 нуклеотиды 81
 нумерация дорожек 18, 53
 нумерация лунок 53
 нумерация плитки 79
 нумерация поверхности 79
 нумерация, лунки 18

О

область световой сигнализации 6, 77
 обучение онлайн 2
 объект групповой политики 87
 опасные химические вещества 9, 19
 операционная система 21, 86
 оптика 6
 отсек для жидкостей 15
 отсеки 6
 отсутствие распознавания 80
 оценка Q-scores 82
 оценки Q-scores 63, 83

ошибки 9, 73
 вероятность 82-83

П

папка выходных данных 22-23
 папка настройки цикла 22-24
 параметры цикла, LIMS 24
 паспорта безопасности материалов 9
 передача данных 10
 перезапуск после завершения работы 77
 перекрестное загрязнение 9, 66
 перелив 74
 перемещение приборов 77
 перенос данных 65
 пополнение 34, 44
 перчатки, замена 34, 44, 70
 пипетки 31
 питание 21
 плексность 35, 46
 плитки 3, 14, 78
 площадка проточной кюветы 6, 55
 подготовка места 86
 подготовка рабочего места 2
 поддержка клиентов 95
 поддон для сбора капельных утечек 74
 положение № 30 65, 70
 положение сипперов 66, 71
 полоса статуса 6, 77
 полосы 3, 14, 79
 пользовательские праймеры 2, 16, 60
 помощь
 документация 2
 помощь, техническая 95
 порты USB 6
 поставщики 29
 права, учетная запись администратора 88
 правила SRP по умолчанию 87
 правила задания паролей 86
 предупреждения 9
 преобразование FASTQ 28
 приготовление пула библиотек 36, 47
 приложения 1
 приостановка циклов 64
 пробирки библиотек 75
 хранение 76
 хранение в картридже 75
 пробирки с библиотеками 16
 хранение 13, 39
 проблемы с жидкостной системой 74
 проверки перед циклом 73

проволочные сетки 33, 43
 программа просмотра анализов
 секвенирования 80
 программа просмотра результатов
 секвенирования 78
 производитель 19
 прокладки 14, 50, 55
 прокладки, переполнение 53
 промывки
 длительность 66-67
 частота 67
 промывная проточная кювета 67
 промывные картриджи 67
 промывочные картриджи 68, 70
 промывочный раствор 15
 прослеживание образцов 16
 протоколы анализа 27, 60
 протоколы анализов 59
 проточные кюветы
 маркировка 12
 очистка 50, 55
 технические характеристики 12
 хранение 13, 50
 царапины 50, 55
 проточные кюветы с двумя дорожками 14
 проточные кюветы с четырьмя
 дорожками 14
 профилактические промывки 67
 растворы для промывки 68
 расходные материалы 29
 профилактическое техническое
 обслуживание 67
 прохождение фильтра (PF) 82
 пузыри 53

Р

рабочий процесс 26
 рабочий процесс NovaSeq Xp 26
 разбавители 38, 49
 разбавление библиотек 39, 49
 разбавленный гидроксид натрия 38, 49
 отдельно используемые дорожки 4, 18
 размеры вставок 36, 47
 расположение серверов 27
 расходные материалы 67
 вода лабораторного класса 31
 выгрузка 65-66
 профилактические промывки 67
 разбавление и денатурирование 29
 упаковка 19

расходные материалы секвенирования 29
 расходные материалы, выгрузка 71
 реактивы DPX, хранение 17
 реактивы ExAmp 14, 51
 методы смешивания 4
 размораживание 46
 хранение 17
 реактивы для денатурирования 38, 49
 регибридизация 24
 режимы 12
 режимы цикла 22

С

сбой регистрации 80
 связи в системе 73
 SE 10
 секвенирование по двухканальной схеме 3
 серийные номера 19
 сетки для оттаивания 33, 43
 сканирование 3
 служба мониторинга Illumina Proactive 23-24
 служба универсального копирования 9-10,
 64
 смесь ExAmp Master Mix 53
 согласование PhiX 78
 сохранение картриджей реактивов 75
 сохранение пробирок библиотек 76
 справка 73
 приготовление пула библиотек 36, 47
 сроки годности 19
 стандартный рабочий процесс 26
 стандартный, определенный 4
 станция 50, 55
 компоненты 18
 станция NovaSeq Xp 50, 55
 сторонняя LIMS 24
 страница «Секвенирование» 63
 страницы поддержки 73
 структурированные проточные кюветы 1, 14
 считывания индекса 60
 считывания, количество 12

Т

таблицы качества 83
 техническая поддержка 95
 технические характеристики 12
 технические характеристики морозильной
 камеры 31

технические характеристики
холодильника 31
техническое обслуживание,
профилактическое 67

У

указания в отношении воды лабораторного
класса 31
укладывание картриджей друг на друга 16
управление процессом 64
управляющее программное обеспечение 9
управляющий компьютер 86
условия хранения 19
утечки 74
утилизация использованных реактивов 9
утилизация формамида 16, 65
учетная запись администратора 88

Ф

фазирование и предварительное
фазирование 81
файлы
характерные для цикла 73
файлы CBCL 3, 64, 82
файлы InterOp 9, 73, 78, 85
файлы журнала 73, 79
файлы распознанных оснований 78, 85
файлы фильтра 85
файлы фильтров 78
фильтр чистоты 82
фильтрация кластеров 82
формат протокола анализов 28

Х

холодильник 8
холодильник для реактивов 8
хранение библиотек 39, 49
хранение данных. 59
хранение комплектов с реактивами 13, 17

Ц

царапины, проточные кюветы 50, 55
цвета графика 63
цикл
числовые показатели 63

циклы
возобновление 76
мониторинг 27, 59
приостановка 64
ступенчатое исполнение 64
удаление 10
циклы с одним считыванием 60
циклы секвенирования
удаление 65

Ч

числовые параметры циклов 78

Э

этапы секвенирования 3

Техническая помощь

Для получения технической помощи свяжитесь со службой технической поддержки компании Illumina.

Веб-сайт www.illumina.com
Электронная почта techsupport@illumina.com

Номера телефонов службы поддержки клиентов Illumina

Регион	Бесплатный звонок	Региональные отделения
Австралия	+1 800-775-688	
Австрия	+43 800-00-62-49	+43 192-865-40
Бельгия	+32 800-771-60	+32 340-029-73
Великобритания	+44 800-012-60-19	+44 207-305-71-97
Германия	+49 800-101-49-40	+49 893-803-56-77
Гонконг	800-96-02-30	
Дания	+45 808-201-83	+45 898-711-56
Ирландия	+353 180-093-66-08	+353 016-95-05-06
Испания	+34 911-89-94-17	+34 800-30-01-43
Италия	+39 800-98-55-13	+39 236-00-37-59
Китай	400-066-58-35	
Нидерланды	+31 800-022-24-93	+31 207-13-29-60
Новая Зеландия	0800-45-16-50	
Норвегия	+47 800-168-36	+47 219-396-93
Северная Америка	+1 800-809-45-66	
Сингапур	+1 800-579-27-45	
Тайвань	008-066-517-52	
Финляндия	+358 800-91-83-63	+358 974-79-01-10
Франция	+33 805-10-21-93	+33 170-77-04-46
Швейцария	+41 565-80-00-00	+41 800-20-04-42
Швеция	+46 850-61-96-71	+46 200-88-39-79
Япония	0800-111-50-11	
Другие страны	+44 179-953-40-00	

Паспорта безопасности веществ (SDS) можно найти на сайте компании Illumina по адресу support.illumina.com/sds.html.

Документацию о продукции можно скачать в формате PDF с веб-сайта компании Illumina. Перейдите на веб-сайт support.illumina.com, выберите нужный продукт, затем нажмите на опцию **Documentation & Literature** (Документация и литература).



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U. S. A. (США)

+1 800-809-ILMN (4566)

+1 858-202-45-66 (за пределами Северной Америки)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

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

© Illumina, Inc., 2019. Все права защищены.

illumina[®]