illumina

Přístroj NovaSeq 6000Dx

Dokumentace k produktu

VLASTNICTVÍ SPOLEČNOSTI ILLUMINA Dokument č. 200010105 v02 Srpen 2022 URČENO K DIAGNOSTICE IN VITRO Tento dokument a jeho obsah je vlastnictvím společnosti Illumina, Inc. a jejích přidružených společností (dále jen "Illumina"). Slouží výlučně zákazníkovi ke smluvním účelům v souvislosti s použitím zde popsaných produktů a k žádnému jinému účelu. Tento dokument a jeho obsah nesmí být používán ani šířen za žádným jiným účelem ani jinak sdělován, zveřejňován či rozmnožován bez předchozího písemného souhlasu společnosti Illumina. Společnost Illumina nepředává tímto dokumentem žádnou licenci na svůj patent, ochrannou známku, autorské právo či práva na základě zvykového práva ani žádná podobná práva třetích stran.

Pokyny v tomto dokumentu musí být důsledně a výslovně dodržovány kvalifikovaným a řádně proškoleným personálem, aby bylo zajištěno správné a bezpečné používání zde popsaných produktů. Veškerý obsah tohoto dokumentu musíte před použitím takových produktů beze zbytku přečíst a pochopit.

NEDODRŽENÍ POŽADAVKU NA PŘEČTENÍ CELÉHO TEXTU A NA DŮSLEDNÉ DODRŽOVÁNÍ ZDE UVEDENÝCH POKYNŮ MŮŽE VÉST K POŠKOZENÍ PRODUKTŮ, PORANĚNÍ OSOB, AŤ UŽ UŽIVATELŮ ČI JINÝCH OSOB, A POŠKOZENÍ JINÉHO MAJETKU A POVEDE KE ZNEPLATNĚNÍ JAKÉKOLI ZÁRUKY VZTAHUJÍCÍ SE NA PRODUKT.

SPOLEČNOST ILLUMINA NA SEBE NEBERE ŽÁDNOU ODPOVĚDNOST VYPLÝVAJÍCÍ Z NESPRÁVNÉHO POUŽITÍ ZDE POPSANÝCH PRODUKTŮ (VČETNĚ DÍLŮ TĚCHTO PRODUKTŮ NEBO SOFTWARU).

© 2022 Illumina, Inc. Všechna práva vyhrazena.

Všechny ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti Illumina, Inc. nebo jejich příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách naleznete na adrese www.illumina.com/company/legal.html.

Historie revizí

Dokument	Datum	Popis změny
Dokument č. 200010105 v02	Srpen 2022	 Do přehledu systému bylo přidáno prohlášení o bezpečnostních informacích. Provedena aktualizace bezpečnosti a souladu s předpisy: Přidáno varování ohledně laseru ve francouzštině a prohlášení o shodě pro FCC, Kanadu, Japonsko a Koreu. Konsolidovány informace o elektromagnetické kompatibilitě a bezpečnosti. Provedena aktualizace přípravy místa: Přidány informace o elektrické zástrčce pro další země. Odstraněny informace o elektrické zástrčce pro Čínu. Aktualizovány informace o spotřebním materiálu a vybavení: Odstraněn přehled symbolů pro spotřební materiál. Aktualizována čísla dílů z IUO na IVD. Přidána 2µl pipeta. Specifikována promývací kazeta V2. Objasněny konfigurace sady spotřebního materiálu. Aktualizován protokol: Odstraněny kroky přípravy NaOH. Odstraněny kroky pro denaturaci a ředění. Změna pořadí kroků nastavení běhu sekvenování. Specifikováno, že průtoková kyveta je při odebrání ze skladu zabalena do krabice. Uvedeno teplotní rozmezí pro pokojovou teplotu v pokynech k přípravě průtokové kyvety. Aktualizována část Údržba a řešení problémů: Objasněno, že postupné zahájení údržbových promývání není podporováno. Odstraněn odkaz na uložení zkumavky knihovny z pokynů pro odstraňování problémů.

Dokument	Datum	Popis změny
Dokument č. 200010105 v01	Duben 2022	Do spotřebních materiálů poskytovaných uživatelem byl přidán Tris-HCl, pH 8,5. Specifikován teplotní rozsah pro vodní lázeň při pokojové teplotě. Opravena výstupní velikost pro průtokové kyvety S2. Opravena katalogová čísla pro zásobníky s pufrem S2 a S4 a zkumavky knihovny. Opraveno Tris-HCl, pH 7,0 na Tris-HCl, pH 8,0.
Dokument č. 200010105 v00	Březen 2022	První vydání.

Obsah

Historie revizí	iii
Přehled systému	1
Přehled sekvenování	2
Součásti přístroje	3
Software přístroje	6
Bezpečnost a soulad s předpisy	7
Poznámky a značení týkající se bezpečnosti	7
Prohlášení o souladu produktu s předpisy	9
Příprava pracoviště	13
Požadavky na laboratoř	14
Poznámky k prostředí	17
Příprava laboratoře pro postupy PCR	19
Důležité elektrotechnické informace	19
Spotřební materiál a vybavení Spotřební materiál pro sekvenování Spotřební materiál a vybavení dodávané uživatelem	
Konfigurace systému	31
Nabídka Settings (Nastavení)	32
Hlavní nabídka	39
Síť a zabezpečení přístroje	40
Protokol	45
Vytvoření běhu sekvenování	45
Příprava spotřebního materiálu	45
Vkládání spotřebního materiálu	48
Výběr a spuštění běhu	51
Sledování postupu běhu	52
Postupné zahájení běhů	54
Po sekvenování	54
Výstupní data sekvenování Analýza v reálném čase Výstupní soubory sekvenování	
Údržba a odstraňování problémů Preventivní údržba	

71

Přehled systému

Přístroj Illumina[®] NovaSeq 6000Dx[™] nabízí v rámci produkční platformy škálovatelný výkon a flexibilní technologii sekvenování s účinností a nákladovou efektivitou stolního systému.

Funkce

- Škálovatelné sekvenování NovaSeq 6000Dx poskytuje sekvenování až na produkční úrovni a přináší vysoce kvalitní data pro širokou škálu aplikací.
- Vzorovaná průtoková kyveta vzorovaná průtoková kyveta generuje těsně rozmístěné klastry pro vysokou hustotu klastrů a výstup dat.
- **Míchání ExAmp v přístroji** NovaSeq 6000Dx míchá reagencie ExAmp s knihovnou, amplifikuje knihovnu a provádí generování klastrů pro štíhlý pracovní postup sekvenování.
- Vysoce výkonné skenování drah NovaSeq 6000Dx používá jednu kameru s technologií obousměrného skenování k rychlému zobrazení průtokové kyvety ve dvou barevných kanálech současně.
- Duální režim NovaSeq 6000Dx zahrnuje pevný disk se samostatným diagnostickým režimem *in vitro* (IVD) a režimem pouze pro výzkumné účely (RUO). Režim se vybírá pomocí přepínače na obrazovkách Sequencing (Sekvenování), Runs (Běhy) a Applications (Aplikace). Po výběru je režim jasně označen na všech obrazovkách.
- Server Illumina DRAGEN pro NovaSeq 6000Dx Zahrnutý Server DRAGEN poskytuje hardwarově akcelerovanou analýzu dat.
- Illumina Run Manager Plánujte běhy, spravujte uživatele a nastavujte aplikace analýzy na přístroji NovaSeq 6000Dx i mimo něj pomocí webového prohlížeče prostřednictvím softwaru Illumina Run Manager.

Poznámky k duálnímu režimu

Sekvenační testy pro diagnostiku *in vitro* (IVD) se provádějí v režimu IVD. V režimu IVD lze použít pouze reagencie pro sekvenování IVD. Před zahájením plánování běhu se vždy ujistěte, že je vybrán správný režim.

Tento zdroj popisuje použití Přístroj NovaSeq 6000Dx v režimu IVD, pokud není uvedeno jinak. V části *Příručka k sekvenačnímu systému NovaSeq 6000 (dokument č. 100000019358)* naleznete informace o funkcích RUO, včetně integrace BaseSpace Sequence Hub.

Bezpečnostní informace

Před prováděním jakýchkoli postupů v systému si přečtěte část *Bezpečnost a soulad s předpisy* na straně 7.

Přehled sekvenování

Sekvenování na přístroji NovaSeq 6000Dx zahrnuje generování klastru, sekvenování a přiřazení báze. Každý z těchto kroků v rámci běhu sekvenování probíhá automaticky. Sekundární analýza se poté provede na Server Illumina DRAGEN pro NovaSeq 6000Dx po dokončení běhu.

Generování klastrů

Během generování klastrů se jednotlivé molekuly DNA vážou k povrchu průtokové kyvety a zároveň se amplifikují, aby vytvořily klastry.

Sekvenování

Klastry jsou snímány pomocí chemické analýzy založené na dvou kanálech, jednom zeleném a jednom červeném. Pomocí nich jsou data zakódována pro čtyři nukleotidy. Průtoková kyveta je skenována v několika průchodech a každý sken je analyzován jako individuálně zobrazované dlaždice. Tento proces se opakuje pro každý cyklus sekvenování.

Primární analýza

Během běhu sekvenování software Analýza v reálném čase (RTA3) provádí přiřazení báze¹, filtrování a vyhodnocování kvality.² V průběhu běhu řídicí software automaticky přenese soubory přiřazení báze³ (*.cbcl) do zadané výstupní složky pro analýzu dat.

Sekundární analýza

Po dokončení sekvenování a primární analýzy je zahájena sekundární analýza. Metoda sekundární analýzy dat závisí na konfiguraci použité aplikace a systému. Pro oba typy běhů RUO i IVD jsou k dispozici různé možnosti sekundární analýzy. Pokud je běh sekvenování vytvořen pomocí aplikace Illumina Run Manager, která používá Server Illumina DRAGEN pro NovaSeq 6000Dx k provádění sekundární analýzy, budou data sekvenování odeslána na server k analýze pomocí analytické aplikace vybrané během nastavení cyklu.

¹Určení báze (A, C, G nebo T) pro každý klastr dané dlaždice v konkrétním cyklu.

²Vypočítá sadu předpovědí kvality pro jednotlivá přiřazení báze a potom hodnoty indicií použije k vyhledání skóre kvality.

³Obsahuje přiřazení báze a s ním spojené skóre kvality pro každý klastr jednotlivých cyklů sekvenování.

Součásti přístroje

Přístroj NovaSeq 6000Dx je vybaven monitorem s dotykovou obrazovkou, stavový proužek, tlačítkem napájení s přilehlými porty USB a třemi oddíly.

Externí součásti

Obrázek 1 Externí součásti



- A. **Monitor s dotykovou obrazovkou** Zobrazuje rozhraní přístroje pro konfiguraci systému a spuštění nastavení a monitorování.
- B. **Oddíl pro optiku** Obsahuje optické součásti, které umožňují snímání průtokových kyvet na dvou površích.
- C. Oddíl pro tekutiny Obsahuje kazety s reagenciemi a pufry a lahve na použité reagencie.
- D. Oddíl pro průtokové kyvety Vkládají se do něj průtokové kyvety.
- E. **Stavový proužek** Signalizuje stav průtokové kyvety, buď připravená k sekvenování (zelený), probíhá zpracování (modrý) nebo vyžaduje pozornost (oranžový).
- F. **Porty napájení a USB** Poskytují přístup k tlačítku napájení a připojení USB pro periferní zařízení.

Prostor průtokové kyvety

Prostor průtokové kyvety obsahuje destičku průtokové kyvety, která udržuje průtokovou kyvetu A vlevo a průtokovou kyvetu B vpravo. Každá strana má čtyři svorky, které automaticky polohují a zajišťují průtokovou kyvetu. Cíl pro vyrovnání optiky namontovaný na destičce průtokové kyvety umožňuje provádět diagnostiku a odstraňovat problémy s optikou. Po výzvě Obslužný software NovaSeq (NVOS) cíl pro vyrovnání optiky provede opakované vyrovnání systému a upraví zaostření kamery, aby se zlepšily výsledky sekvenování.

Obrázek 2 Součásti destičky průtokové kyvety



- A. Držák průtokové kyvety na straně A
- B. Držák průtokové kyvety na straně B
- C. Svorka průtokové kyvety (jedna ze čtyř na každé straně)
- D. Cíl pro vyrovnání optiky

NVOS řídí otevírání a zavírání dvířek oddílu průtokové kyvety. Dvířka se automaticky otevřou k založení průtokové kyvety pro cyklus nebo udržovací promývání. Po vložení software zavře dvířka oddílu, přesune průtokovou kyvetu na místo a aktivuje svorky a vakuové těsnění. Snímače ověřují přítomnost a kompatibilitu průtokové kyvety.

Oddíl pro tekutiny

Nastavení cyklu vyžaduje přístup do prostoru pro tekutiny, aby bylo možné vložit reagencie a pufr a vyprázdnit lahvičky s použitými reagenciemi. Dvoje dvířka uzavírají oddíl pro tekutiny, který je rozdělen na dvě odpovídajících strany pro průtokovou kyvetu A a průtokovou kyvetu B.

Obrázek 3 Součásti oddílu pro tekutiny



- A. Malá lahvička na použité reagencie Uchovává použité reagencie z klastrové kazety, obsahuje držák uzávěru pro snadné uložení uzávěru.
- B. Velká použitá na použité reagencie Uchovává použité reagencie ze SBS a pufrových kazet, obsahuje držák uzávěru pro snadné uložení uzávěru.
- C. Chladič reagencií Chladí SBS a klastrové kazety.
- D. Zásuvka chladiče reagencií Do barevně rozlišených pozic se vkládá SBS kazeta vlevo (šedý štítek) a klastrová kazeta vpravo (oranžový štítek).
- E. Zásuvka pufru Pojme velkou láhev na použité reagencie vlevo a kazetu s pufrem vpravo.

Použité reagencie

Systém fluidiky je určen k vedení reagencií klastrových kazet, které jsou potenciálně nebezpečné, do malé lahvičky pro použité reagencie. Reagencie ze SBS a pufrových kazet jsou směrovány do velké lahvičky na použité reagencie. Může však dojít ke zkřížené kontaminaci mezi toky použitých reagencií. Předpokládejte, že obě lahvičky na použité reagencie obsahují potenciálně nebezpečné chemické látky. Bezpečnostní list (SDS) obsahuje podrobné chemické informace.

Pokud je systém nakonfigurován tak, aby shromažďoval použité reagencie externě, přítok do velké lahvičky na použité reagencie je veden externě. Reagencie klastrové kazety jsou vedeny do malé lahvičky na použité reagencie.

Software přístroje

NovaSeq 6000Dx s Server DRAGEN obsahuje integrované aplikace, které provádějí sekvenovací běhy, analýzu v přístroji a na serveru a další související funkce. Další informace o konfiguraci softwaru přístroje naleznete v části *Konfigurace systému* na straně 31.

- Obslužný software NovaSeq (NVOS) Provádí postupy zakládání, řídí operace přístroje a zobrazuje statistiky v průběhu běhu. NVOS ovládá destičku průtokové kyvety, dávkuje činidla, řídí fluidiku, nastavuje teploty, pořizuje snímky klastrů na průtokové kyvetě a poskytuje vizuální shrnutí statistik kvality.
- Analýza v reálném čase (RTA) Provádí analýzu obrazu a přiřazování bází během běhu. NovaSeq 6000Dx používá aplikaci RTA3, která zahrnuje vylepšení architektury, zabezpečení a dalších funkcí pro optimalizaci výkonu.
- Universal Copy Service (UCS) Kopíruje výstupní soubory z RTA3 a NVOS do výstupní složky a do Server DRAGEN v průběhu běhu. Pokud je Universal Copy Service přerušena za běhu, služba provede několik pokusů o opětovné připojení a automaticky obnoví přenos dat.
- Illumina Run Manager Plánuje běhy, zobrazuje plánované běhy a kontroluje výsledky běhů na NovaSeq 6000Dx nebo vzdáleně pomocí webového prohlížeče. Illumina Run Manager také řídí oprávnění uživatelů a aplikací.
- Server Illumina DRAGEN pro NovaSeq 6000Dx Po dokončení sekvenování na NovaSeq 6000Dx začne analýza na Server DRAGEN. Analýza na Server DRAGEN a sekvenování na přístroji mohou probíhat souběžně.

Bezpečnost a soulad s předpisy

Tato část obsahuje důležité bezpečnostní informace, které se vztahují k instalaci, provádění údržby a provozu přístroje Přístroj NovaSeq 6000Dx, jakož i prohlášení o souladu produktu s předpisy. Před provedením jakýchkoliv postupů se systémem si přečtěte tyto informace.

Zemi původu a datum výroby systému naleznete na štítku přístroje.

Poznámky a značení týkající se bezpečnosti

V této části jsou popsána potenciální rizika instalace, servisu a provozu přístroje. Nepoužívejte přístroj ani s ním nemanipulujte způsobem, při kterém byste se vystavili těmto rizikům.



UPOZORNĚNÍ

Pokud na podlaze v blízkosti přístroje najdete kapalinu, vyhněte se kontaktu s kapalinou a přístrojem a okamžitě omezte přístup do daného prostoru. Vypněte napájení přístroje pomocí jističe. Okamžitě kontaktujte technickou podporu Illumina.

Obecná bezpečnostní varování



Při práci v místech označených tímto štítkem dodržujte všechny provozní pokyny. Minimalizujete tím rizika pro obsluhu a přístroj.

Bezpečnostní varování pro průtokovou kyvetu



UPOZORNĚNÍ

Dbejte, abyste prsty udržovali mimo dvířka průtokové kyvety, protože by mohlo dojít ke zranění.

Bezpečnostní varování pro zacházení s těžkými předměty



Přibližná hmotnost zasílaného přístroje je 447 kg a přibližně 576 kg když je nainstalován. V případě pádu nebo nevhodného zacházení může způsobit vážné poranění osob.

Bezpečnostní varování týkající se horkých povrchů



Nepoužívejte přístroj, pokud je z něj sejmut kterýkoliv z krycích panelů.

Nedotýkejte se teplotní stanice v prostoru průtokové kyvety. Ohřívač používaný v této oblasti je běžně regulován mezi okolní pokojovou teplotou (22 °C) a 60 °C. Vystavení teplotám na horním konci tohoto rozsahu může způsobit popáleniny.

Bezpečnostní varování týkající se laseru



Přístroj NovaSeq 6000Dx je laserový výrobek třídy 1, který obsahuje dva lasery třídy 4, jeden laser třídy 3B a jeden laser třídy 3R.

Lasery třídy 4 představují nebezpečí pro zrak z přímého vystavení i rozptýlených odrazů. Nevystavujte oči ani kůži přímému ani odraženému záření laseru třídy 4. Lasery třídy 4 mohou způsobit vznícení hořlavých materiálů a při přímém vystavení mohou způsobit závažné popálení či zranění kůže.

Lasery třídy 3B představují nebezpečí pro zrak. Mohou zahřívat kůži a materiály, ale nepředstavují nebezpečí popálení.

Lasery třídy 3R představují nebezpečí pro zrak při přímém vystavení očí laserovému paprsku.

Nepoužívejte přístroj, pokud je z něj sejmut kterýkoliv z krycích panelů. Když jsou dvířka průtokové kyvety otevřená, bezpečnostní blokovací spínače zablokují laserový paprsek. Při provozování přístroje se sejmutým některým z panelů riskujete vystavení laserovému záření (přímému nebo odraženému).

Obrázek 4 Varování ohledně laseru třídy 4 a 3R (anglicky)

DANGER - CLASS 4 AND 3R VISIBLE AND INVISIBLE LASER RADIATION WHEN OPEN. AVOID EYE OR SKIN EXPOSURE TO DIRECT OR SCATTERED RADIATION

Obrázek 5 Varování ohledně laseru třídy 4 a 3R (francouzsky)

DANGER – RAYONNEMENT LASER VISIBLE ET INVISIBLE DE CLASSE 4 ET 3R EN CAS D'OUVERTURE EXPOSITION DANGEREUSE AU RAYONNEMENT DIRECT OU DIFFUS DES YEUX OU DE LA PEAU

Ochranné uzemnění



Přístroj má připojení k ochrannému uzemnění prostřednictvím skříně. Bezpečné uzemnění je vedeno vodičem napájecího kabelu ze zásuvky. Při používání tohoto zařízení musí být kontakt uzemnění v napájecím kabelu v dobrém a funkčním stavu.

Prohlášení o souladu produktu s předpisy

Poznámky k elektromagnetické kompatibilitě

Před provozem zařízení vyhodnoťte stav elektromagnetického prostředí. Toto zařízení bylo navrženo a zkoušeno podle normy CISPR 11 třídy A. V domácím prostředí může způsobovat rádiové rušení. Případné rádiové rušení může být nutné potlačit.

Toto lékařské zařízení IVD splňuje požadavky na vyzařování a odolnost popsané v normě IEC 61326-2-6. Toto zařízení je určeno pro použití v odborných zdravotnických zařízeních. Při použití v domácích zdravotnických zařízeních je pravděpodobné, že nebude fungovat správně. Pokud existuje předpoklad, že je výkon ovlivněn elektromagnetickým rušením, lze správnou funkci obnovit zvětšením odstupu mezi zařízením a zdrojem rušení. Toto zařízení není určeno pro použití v domácnostech a nemusí v takovém prostředí poskytovat dostatečnou ochranu příjmu rádiového signálu. Před zahájením provozu zařízení by měl být vyhodnocen stav elektromagnetického prostředí.

Nepoužívejte zařízení v blízkosti zdrojů silného elektromagnetického záření, které mohou rušit jeho správný provoz.

NovaSeq 6000Dx se smí používat pouze v laboratorních prostředích odborných zdravotnických zařízení. Přístroj není určen k použití v žádném z následujících prostředí: lékařské ordinace, jednotky intenzivní péče nebo ambulantní centra, chirurgické nebo operační sály, zdravotnické kliniky, pacientské pokoje, stomatologické ordinace, zařízení s omezenou péčí, pečovatelské domy, lékárny, zařízení první pomoci nebo v blízkosti silných zdrojů elektromagnetického záření (např. magnetická rezonance). Na základě zamyšleného provozního prostředí definovaného výše je přístroj NovaSeq 6000Dx považován za ŘÍZENÉ ELEKTROMAGNETICKÉ PROSTŘEDÍ s pevnými elektromagnetickými zdroji a jakákoli porucha NovaSeq 6000Dx nezpůsobí přímo újmu, vážné zranění nebo smrt pacienta, pokud se NovaSeq 6000Dx používá k určenému účelu. Elektromagnetické zdroje, které se mohou používat vedle NovaSeq 6000Dx, zahrnují následující:

- Systémy radiofrekvenční identifikace (RFID)
- Místní bezdrátové sítě (WLAN)
- Ruční mobilní radiostanice (např. TETRA, obousměrná radiostanice)
- Pagingové systémy
- Jiná bezdrátová zařízení (včetně spotřebitelských zařízení)

Vystavení člověka elektromagnetickým polím

Toto zařízení splňuje limity pro maximální přípustné působení na širokou veřejnost podle článku 47 zákona CFR §1.1310, tabulka 1.

Toto zařízení splňuje limity pro působení elektromagnetických polí na člověka vysílaných zařízeními pracujícími v rozsahu frekvencí 0 Hz až 10 GHz, které se používají pro radiofrekvenční identifikaci (RFID) v pracovním nebo profesionálním prostředí. (EN 50364:2010, část 4.0.)

Informace o dodržování předpisů pro RFID viz *Příručka souladu s předpisy čtečky RFID (dokument č. 100000002699)*.

Zjednodušené prohlášení o shodě

Společnost Illumina, Inc. tímto prohlašuje, že přístroj Přístroj NovaSeq 6000Dx vyhovuje následujícím směrnicím:

- Směrnice o elektromagnetické kompatibilitě [2014/30/EU]
- Směrnice o elektrických zařízeních určených pro používání v určitých mezích napětí [2014/35/EU]
- Směrnice o rádiových zařízeních [2014/53/EU]

Společnost Illumina, Inc. tímto prohlašuje, že výpočetní server vyhovuje následujícím směrnicím:

• Směrnice RoHS [2011/65/EU] ve znění směrnice 2015/863/EU

Úplný text evropského prohlášení o shodě je k dispozici na následující webové adrese: support.illumina.com/certificates.html.

Nařízení o odpadních elektrických a elektronických zařízeních (OEEZ)



Tento štítek označuje, že přístroj splňuje směrnici OEEZ pro odpady.

Návod k recyklaci zařízení naleznete na stránce support.illumina.com/certificates.html.

Soulad s předpisy FCC

Toto zařízení splňuje podmínky části 15 pravidel FCC. Jeho provoz podléhá následujícím dvěma podmínkám:

- 1. Toto zařízení nesmí způsobovat škodlivé rušení.
- 2. Toto zařízení musí akceptovat jakékoli přijaté rušení včetně rušení, které může způsobit nežádoucí provoz.



UPOZORNĚNÍ

Změny nebo úpravy této jednotky, které nejsou výslovně schváleny stranou odpovědnou za soulad s předpisy, mohou způsobit neplatnost oprávnění uživatele k provozu zařízení.

POZNÁMKA Toto zařízení bylo testováno a vyhovuje limitům pro digitální zařízení třídy A podle části 15 pravidel FCC. Tyto limity jsou navrženy tak, aby poskytovaly přiměřenou ochranu proti škodlivému rušení, když je zařízení provozováno v komerčním prostředí.

> Toto zařízení generuje, používá a může vyzařovat vysokofrekvenční energii, a pokud není instalováno a používáno v souladu s návodem k použití, může způsobit škodlivé rušení rádiové komunikace. Provoz tohoto zařízení v obytných zónách pravděpodobně způsobí škodlivé rušení. V takovém případě bude uživatel muset toto rušení odstranit na vlastní náklady.

Stíněné kabely

V zájmu zajištění souladu s limity FCC pro zařízení třídy A musí být s touto jednotkou použity stíněné kabely.

Soulad s předpisy IC

Tento digitální přístroj třídy A splňuje všechny požadavky kanadských předpisů pro zařízení způsobující rušení.

Toto zařízení splňuje standardy RSS úřadu Industry Canada vyjmuté z licence. Jeho provoz podléhá následujícím dvěma podmínkám:

- 1. Toto zařízení nesmí způsobovat rušení.
- 2. Toto zařízení musí akceptovat jakékoli rušení včetně rušení, které může způsobit nežádoucí provoz zařízení.

Soulad s předpisy Japonska

この装置は、クラスA機器です。この装置を住宅環境で使用すると電波妨害 を引き起こすことがあります。この場合には使用者が適切な対策を講ずるよう 要求されることがあります。VCCI-A

Soulad s předpisy Jižní Koreje

해 당 무 선 설 비 는 운 용 중 전 파 혼 신 가 능 성 이 있 음. A급 기 기 (업 무 용 방 송 통 신 기 자 재) 이 기 기 는 업 무 용 (A급)으 로 전 자 파 적 합 로 서 판 매 자 또 는 사 용 자 는 이 점 을 주 의 하 시 기 바 라 며, 가 정 외 의 지 역 에 서 사 용 하 는 것 을 목 적 으 로 합 니 다 .

Soulad s předpisy Spojených arabských emirátů

- Číslo registrace TRA: ER0117765/13
- Číslo prodejce: DA0075306/11

Soulad s předpisy Thajska

Toto telekomunikační vybavení splňuje požadavky Národní telekomunikační komise.

Příprava pracoviště

Tato část uvádí specifikace a pokyny pro přípravu pracoviště k instalaci a provozu Přístroj NovaSeq 6000Dx.

Dodání a instalace

Zástupce společnosti Illumina doručí systém, vyjme součásti a umístí přístroj. Ujistěte se, že před dodáním je připraveno místo v laboratoři.

Rizika spojená se zatížením podlahy pro instalaci přístroje musí vyhodnotit a řešit personál budovy.



UPOZORNĚNÍ

Vyjmutí z přepravní bedny, instalaci nebo přemístění přístroje smí provést pouze oprávnění pracovníci. Nesprávné zacházení s přístrojem může mít vliv na nastavení přístroje nebo může poškodit součásti přístroje.

Instalaci a přípravu přístroje provádí zástupce společnosti Illumina. Při připojování přístroje k systému pro správu dat nebo vzdálenému síťovému umístění se ujistěte, že cesta pro datové úložiště je vybrána před datem instalace. Zástupce společnosti Illumina může odzkoušet proces přenosu dat během instalace.



UPOZORNĚNÍ

Po dokončení instalace a přípravy přístroje zástupcem společnosti Illumina přístroj *nepřemisťujte*. Nesprávné přemístění přístroje může ovlivnit optické zarovnání a narušit integritu dat. Pokud potřebujete přístroj přemístit, spojte se se zástupcem společnosti Illumina.

Doručení Server DRAGEN

Informace o dodávkách a instalaci Server DRAGEN naleznete v Server Illumina DRAGEN pro NovaSeq 6000Dxdokumentaci k produktu na stránce podpory Illumina.

Rozměry přepravní bedny a obsah

NovaSeq 6000Dx a součásti jsou dodávány v jedné dřevěné bedně (bedna č. 1) a jedné kartonové bedně (bedna č. 2). Při určování minimální šířky dveřního otvoru pro průchod přepravní bedny se řiďte následujícími rozměry.

Míra	Bedna č. 1	Bedna č. 2
Výška	155 cm	84 cm

Míra	Bedna č. 1	Bedna č. 2
Šířka	104 cm	122 cm
Hloubka	155 cm	102 cm
Hmotnost bedny	628 kg	176 kg

U bedny č. 1 se přístupové body vysokozdvižného vozíku nachází na hluboké straně bedny. Při přepravě přístroje v bedně to berte v úvahu, když bednu přenášíte přes dveře a ve výtahu.

Hmotnost UPS a externího akumulátorového bloku pro UPS, které se nachází v bedně č. 2, se může lišit v závislosti na expedovaném modelu.

- Bedna č. 1 obsahuje přístroj.
- Bedna č. 2 obsahuje pět krabic s následujícím obsahem:
 - Krabice nepřerušitelný zdroj napájení (UPS), hmotnost 46 kg
 - Krabice externí akumulátorový blok pro UPS, hmotnost 64 kg
 - Krabice příslušenství, celková hmotnost 31 kg
 - Monitor
 - Velká láhev na použité reagencie a malá láhev na použité reagencie
 - Miska na úniky přístroje
 - Drátové rozmrazovací stojany (4)
 - Promývací průtokové kyvety (2)
 - Promývací kazety SBS (2)
 - Promývací kazety klastru V2 (2)
 - Bezdrátová klávesnice a myš, pokud je to vhodné pro danou oblast. Pokud nemáte bezdrátovou klávesnici, použijte kabelovou klávesnici.
 - Krabice další součásti
 - Dvě samostatně balené lahve s pufrem do stojanu
 - Napájecí kabel specifický pro danou oblast
 - Karta pro lékaře k přístroji IVD (dokument č. 200016882)
 - Krabice komínový adaptér

Požadavky na laboratoř

Připravte laboratorní místo s použitím specifikací a požadavků uvedených v této části.

Umístění přístroje

Obrázek 6 Rozměry přístroje



Tabulka 1 Rozměry přístroje

Míra	Rozměry přístroje*
Výška	165,6 cm
Šířka	80,0 cm
Hloubka	94,5 cm
Hmotnost	481 kg

* Systém UPS není do tohoto rozměru zahrnut, je nutné vyčlenit další prostor.

Přístroj umístěte tak, aby umožňoval správné větrání, přístup k údržbě a přístup k vypínači, elektrické zásuvce a napájecímu kabelu.

- Přístroj umístěte tak, aby měl personál na pravé straně přístroje dostatečný prostor k zapnutí nebo vypnutí vypínače. Tento vypínač se nachází na zadním panelu vedle napájecího kabelu.
- Přístroj umístěte tak, aby mohl personál rychle vytáhnout napájecí kabel z elektrické zásuvky.
- Použijte následující minimální rozměry volného prostoru okolo, aby byla zajištěna přístupnost přístroje ze všech stran.
- UPS lze umístit na obě strany přístroje. UPS lze umístit v rámci minimálního volného prostoru po stranách přístroje.

Tabulka 2 Volný prostor okolo přístroje

Přístup	Minimální volný prostor
Přední strana	Nechte před přístrojem prostor alespoň 152,4 cm pro otevření přihrádky na tekutiny a pro zajištění obecného laboratorního přístupu pro pohyb personálu v laboratoři.
Po stranách	Na každé straně přístroje ponechejte vzdálenost alespoň 76,2 cm pro přístup a volný prostor kolem přístroje. Jsou-li přístroje umístěné vedle sebe, je nutné mezi nimi ponechat prostor 76,2 cm.
Vzadu	Je-li přístroj umístěn vedle stěny, ponechte za ním volný prostor alespoň 30,5 cm, aby se zajistilo větrání a přístup. Mezi dvěma přístroji umístěnými zadními částmi k sobě ponechejte volný prostor alespoň 61 cm.
Nahoře	Ujistěte se, že nad přístrojem nejsou police a jiné překážky.
•	× /



UPOZORNĚNÍ

Nesprávné umístění může omezit ventilaci. Omezená ventilace zvyšuje tepelný výkon a hlučnost, což narušuje integritu dat a bezpečnost personálu.

Rozvržení instalace několika systémů

Příklad rozvržení instalace několika systémů, včetně požadavků na minimální rozestupy, naleznete v nákresu.

Obrázek 7 Rozvržení instalace několika systémů



Poznámky k prostředí

Prvek	Specifikace
Kvalita vzduchu	Přístroj používejte v prostředí s 2. stupněm znečištění ovzduší nebo čistším. Prostředí s 2. stupněm znečištění ovzduší je definováno jako prostředí, které běžně obsahuje pouze nevodivé nečistoty.
Nadmořská výška	Přístroj instalujte v nadmořské výšce nižší než 2000 m.n.m.
Vlhkost	Přeprava a skladování: Nekondenzující vlhkost v rozmezí 15–80 %.
	Provozní podmínky: Udržujte relativní vlhkost v rozmezí 20–80 % bez kondenzace.
Umístění	Přístroj provozujte pouze ve vnitřním prostředí.
Teplota	Přeprava a skladování: -10 °C až 50 °C. Provozní podmínky: Teplotu v laboratoři udržujte v rozmezí 19 až 25 °C (22 °C ±3 °C). Tato teplota je provozní teplotou přístroje. V průběhu sekvenačního běhu zabraňte změnám teploty prostředí o více než ±2 °C.
Větrání	Ve věci požadavků na větrání s ohledem na technické údaje tepelného výkonu přístroje se poraďte s pracovníky správy budovy.
Vibrace	Omezte vibrace v laboratoři na úroveň ISO pro kanceláře. V průběhu sekvenačního běhu nesmí vibrace překročit limity ISO provozní místnosti. Předejděte náhodným nárazům nebo rušení v blízkosti přístroje.

Tabulka 3 Specifikace prostředí přístroje

Tabulka 4 Tepelný výkon

Špičkový příkon	Produkce tepla
2 500 W	Maximálně 8 530 BTU/h Průměrně 6 000 BTU/h

Tabulka 5 Hlučnost

Hlučnost	Vzdálenost od přístroje
< 75 dB	1 m

Manipulace s hromadně používanými reagenciemi

NovaSeq 6000Dx je vybaven zařízením pro dávkování použitého reagenčního pufru do zákazníkem dodané velkoobjemové nádoby pro samostatné zpracování nebo manipulaci. Dodané externí hadičky na použité reagencie, které jsou součástí sady příslušenství, mají délku 5 metrů a připojují se k levé zadní části přístroje.

Illumina podporuje pouze externí shromažďování použitých reagencií pomocí dodaných hadiček. Každá zkumavka obsahuje odpad pufru z jedné pozice průtokové kyvety a musí být vedena jednotlivě do velké nádoby.

Nádoba musí být umístěna do 5 metrů od přístroje. Otvor musí být ve výšce 1 000 mm nebo méně od podlahy.

Odvětrávání

25,4cm svislý komín kruhového průřezu odvádí 60 % tepelného výkonu přístroje. Komín je možné odvětrávat do místnosti nebo jej připojit k potrubí dodávanému uživatelem.

Pro odvětrávací vedení je nutné dodržovat následující pokyny.

- Upřednostňuje se flexibilní vedení.
- Neohýbejte pružná vedení všude tam, kde je to možné. Ohyby udržujte na nezbytném minimu.
- Pružná vedení s ohyby musí ve všech místech odpovídat průměru komína 25,4 cm.
- Odstraňte smyčky nebo jiná omezení proudění vzduchu.
- Lze použít pevné vedení. Použití pevného vedení může vyžadovat, aby Illumina pracovníci přesunuli přístroj k provedení servisu.
- Použijte nejkratší možnou délku vedení.
- Nasměrujte jej do prostoru s dostatečnou ventilací, aby se zabránilo omezení proudění vzduchu nebo zpětnému nasávání do přístroje.



UPOZORNĚNÍ

Nedodržení těchto pokynů může mít vliv na výkon přístroje a může způsobit selhání běhu.

Průtok vzduchu komínem je 450 CFM. Teplota vzduchu v komínu je až o 12 °C vyšší než okolní teplota.

Obrázek 8 Umístění komínu pro odvětrávání





Příprava laboratoře pro postupy PCR

Některé metody přípravy knihoven vyžadují proces polymerázové řetězové reakce (PCR). Před zahájením laboratorní práce stanovte vyhrazené oblasti a laboratorní postupy, abyste předešli kontaminaci produktu PCR. Produkty PCR mohou kontaminovat reagencie, přístroje a vzorky, což může mít za následek prodlužování operací a nepřesné výsledky.

Předejděte kontaminaci dodržováním následujících pokynů.

- Určete oblast "před PCR" určenou pro provádění procesů před PCR.
- Určete oblast "po PCR" určenou pro zpracování produktů PCR.
- Nepoužívejte stejné umývadlo k mytí materiálů v oblasti před PCR a materiálů v oblasti po PCR.
- Nepoužívejte stejný systém pro purifikaci vody pro oblasti před PCR a po PCR.
- Materiály používané pro protokoly před PCR skladujte v oblasti "před PCR". Podle potřeby je přesuňte do oblasti "po PCR".
- Nepoužívejte stejné vybavení a materiály pro procesy před PCR a po PCR. Mějte pro každou oblast vyhrazenou sadu vybavení a materiálu.
- Jasně stanovte úložné prostory, kam budete odkládat a skladovat spotřební materiály pro jednotlivé oblasti.

Důležité elektrotechnické informace

Tabulka 6 Specifikace napájení

Тур	Specifikace
Síťové napětí	200–240 V stř. při 50/60 Hz
Špičkový příkon	2 500 W

Pro napětí 200–240 V stř. musí být vaše zařízení připojeno minimálně 15 A uzemněným vedením se správným napětím. Je požadováno elektrické uzemnění. Pokud napětí kolísá ve větším rozsahu než 10 %, je požadován stabilizátor napájení.

Přístroj musí být připojen k vyhrazenému obvodu, který nesmí být sdílen s žádným jiným zařízením.

Pojistky

Přístroj neobsahuje pojistky určené k výměně uživatelem.

Napájecí kabely

Přístroj je vybaven zásuvkou podle mezinárodního standardu IEC 60320 C20 a je dodáván s napájecím kabelem specifickým pro danou oblast. Pokud potřebujete získat ekvivalentní zásuvky nebo kabely odpovídající místním standardům, obraťte se prosím na jiného dodavatele, jakým je například Interpower

Corporation (www.interpower.com). Všechny napájecí kabely mají délku 2,5 m.

Přístroj je bez nebezpečného napětí, pouze když je napájecí kabel odpojený od zdroje střídavého napájení.



UPOZORNĚNÍ

K připojení přístroje k napájecímu zdroji nikdy nepoužívejte prodlužovací kabel.

V následující tabulce jsou uvedeny podporované zdroje napájení pro vaši oblast. Případně mohou všechny regiony používat zařízení dle normy IEC 60309.

Tabulka 7 Požadavky na napájecí kabel pro vybrané oblasti

Oblast	Dodaný napájecí kabel	Elektrické napájení	Zásuvka
Austrálie	AS 3112 SAA, zástrčka C19, 15 A	230 V stř., 15 A	15 A, typ I
Brazílie	NBR14136, zástrčka C19, 16 A	220 V stř., 16 A	NBR 14136, typ N
Chile	CEI 23-16, C19, 16 A	220 V stř., 16 A	CEI 23-16/VII, typ L
Evropská unie¹ Srbsko Ukrajina	Schuko CEE 7 (EU1-16p), C19, 16 A	220–240 V stř., 16 A	Schuko CEE 7/3

Oblast	Dodaný napájecí kabel	Elektrické napájení	Zásuvka
Indie	IS1293, C19, 16 A	230 V stř., 16 A	BS546A typ M
Izrael	IEC 60320, C19, 16 A	230 V stř., 16 A	SI 3216 A, typ H
Japonsko	NEMA L6-30P, 30 A	200 V stř., 30 A	NEMA L6-30R
Nový Zéland	AS 3112 SAA, zástrčka C19, 15 A	230 V stř., 15 A	Vyhrazený 15 A, typ I
Severní Amerika Kolumbie	NEMA L6-20P, C19, 20 A	208 V, 16 A	NEMA L6-20R
Peru Filipíny	NEMA L6-20P, C19, 20 A	220 V stř., 16 A	NEMA L6-20R



¹ S výjimkou Švýcarska a Spojeného království.

Nepřerušitelný zdroj napájení

Následující specifikace se vztahují na globální jednotku UPS, která se dodává s přístrojem.

Pro země, které vyžadují jiný model UPS a akumulátoru, a alternativy, viz odstavec *Nepřerušitelný zdroj* napájení specifický pro danou zemi na straně 23.

• UPS – APC Smart-UPS X 3000 Rack/Tower LCD 200–240 V, modelové č. SMX3000RMHV2U

Specifikace	UPS
Maximální výkon	2700 W* / 3000 VA
Vstupní napětí (jmenovité)	200–240 V stř.
Vstupní frekvence	50/60 Hz
Vstupní připojení	IEC-60320 C20
Hmotnost	95 kg
Rozměry (formát věže: V × Š × H)	43,2 cm × 66,7 cm × 17 cm

* UPS vyžaduje k nabíjení akumulátorů a provádění dalších interních funkcí maximální výkon 330 W. Během této doby je k dispozici výkon 2700 W.

Nepřerušitelný zdroj napájení specifický pro danou zemi

Illumina dodává následující UPS specifické pro danou zemi.

Země	Modelové číslo UPS
Kolumbie	SRT3000RMXLW-IEC
Indie	SUA3000UXI
Japonsko	SRT5KXLJ
Mexiko	SRT3000RMXLW-IEC
Jižní Korea	SRT3000RMXLW-IEC
Thajsko	SRT3000RMXLW-IEC

Další informace o specifikacích naleznete na webových stránkách APC (www.apc.com).

POZNÁMKA Přesné možnosti UPS a akumulátoru závisí na dostupnosti a mohou se bez upozornění měnit.

Spotřební materiál a vybavení

Tato část uvádí vše potřebné pro sekvenační běh NovaSeq 6000Dx. Patří sem spotřební materiál dodávaný společností Illumina a pomocný spotřební materiál a vybavení, které je třeba zakoupit od jiných dodavatelů. Tyto položky jsou nutné k dokončení protokolu a k provádění postupů údržby a odstraňování problémů.

Informace o symbolech na spotřebním materiálu nebo jeho obalu viz *Přehled symbolů v produktu Illumina IVD (dokument č. 100000039141)*.

Spotřební materiál pro sekvenování

Běh NovaSeq 6000Dx vyžaduje následující komponenty:

- Kazeta s pufrem
- Klastrová kazeta
- Průtoková kyveta
- Zkumavka knihovny
- Kazeta SBS

Spotřební materiál NovaSeq 6000Dx je balen v následujících konfiguracích. Každá komponenta používá radiofrekvenční identifikaci (RFID) pro přesné sledování spotřebního materiálu a kompatibility.

Tabulka 8 Spotřební materiál dodaný společností Illumina

Název sady	Obsah	Katalogové číslo Illumina
Sada reagencií NovaSeq 6000Dx S2 v1.5 (300 cyklů)	Klastrová kazeta S2 Průtoková kyveta S2 Kazeta SBS S2	20046931
Sada reagencií NovaSeq 6000Dx S4 v1.5 (300 cyklů)	Klastrová kazeta S4 Průtoková kyveta S4 Kazeta SBS S4	20046933
Kazeta s pufrem S2 NovaSeq 6000Dx	Kazeta s pufrem S2	20062292
Kazeta s pufrem S4 NovaSeq 6000Dx	Kazeta s pufrem S4	20062293
Zkumavka knihovny NovaSeq 6000Dx	Jedna zkumavka knihovny	20062290
NovaSeq 6000Dx Zkumavka knihovny, balení 24 ks	24 zkumavek knihovny	20062291

Po obdržení spotřebního materiálu ihned uskladněte jednotlivé součásti při uvedené teplotě, abyste zajistili jejich správnou funkčnost.

Spotřební materiál	Množství	Skladovací teplota	Délka	Šířka	Výška
Průtoková kyveta	1	2 °C až 8 °C	27,7 cm	17 cm	3,8 cm
Klastrová kazeta	1	-25 °C až -15 °C	29,5 cm	13 cm	9,4 cm
Kazeta SBS	1	-25 °C až -15 °C	30 cm	12,4 cm	11,2 cm
Kazeta s pufrem	1	15 °C až 30 °C	42,2 cm	20,6 cm	21,1 cm
Zkumavka knihovny	1	15 °C až 30 °C	4,1 cm	2,3 cm	12,4 cm

Tabulka 9 Skladování soupravy NovaSeq 6000Dx

Podrobnosti o spotřebním materiálu

K identifikaci kompatibilních součástí soupravy jsou průtokové kyvety a kazety označeny symboly, které ukazují režim soupravy.

Tabulka 10 Označení kompatibility

Režim sady	Označení na štítku	Popis
Komponenty sady S2	S2	Průtoková kyveta S2 generuje až 4,1 miliardy jednotlivých čtení procházejících filtrem s výstupem až 1000 Gb při 2 x 150 bp. Průtoková kyveta S2 zajišťuje rychlé sekvenování pro většinu aplikací s vysokou propustností.
Komponenty sady S4	S4	Průtoková kyveta S4 generuje až 10 miliard jednotlivých čtení procházejících filtrem s výstupem až 3000 Gb při 2 x 150 bp. Průtoková kyveta S4 je verze se čtyřmi drahami určená pro maximální výkon.

Průtoková kyveta

Průtoková kyveta NovaSeq 6000Dx je vzorovaná průtoková kyveta vložená do kazety. Průtoková kyveta je skleněný substrát obsahující miliardy uspořádaných nanoprvků. V nanoprvcích jsou generovány klastry, ze kterých se pak provádí sekvenování.

Každá průtoková kyveta má více drah pro sekvenační knihovny sloučené ve fondu. Průtoková kyveta S2 obsahuje dvě řady, zatímco průtoková kyveta S4 má čtyři. Každá dráha je snímána v několika záběrech a software poté rozděluje obraz každého záběru na menší části nazývané dlaždice.

Některé škrábance a jiné drobné kosmetické vady průtokové kyvety jsou normální a neočekává se, že by ohrozily kvalitu dat a výtěžnost. Illumina doporučuje používat tyto průtokové kyvety obvyklým způsobem.

Obrázek 9 Průtokové kyvety



- A. Kazeta průtokové kyvety
- B. Průtoková kyveta se čtyřmi drahami (S4)
- C. Průtoková kyveta se dvěma drahami (S2)

Spodní strana každé průtokové kyvety obsahuje několik těsnění. Knihovny a reagencie vstupují do drah průtokové kyvety skrze těsnění na vstupním konci průtokové kyvety. Použité reagencie jsou vytlačovány z drah přes těsnění na výstupním konci.



UPOZORNĚNÍ

Při manipulaci s průtokovou kyvetou se nedotýkejte těsnění.

Obrázek 10 Převrácená průtoková kyveta



- A. Výstupní konec
- B. Vstupní konec
- C. Těsnění (jedno ze čtyř)

Podrobnosti o pufrové, klastrové a SBS kazetě

Pufrové, klastrové a SBS kazety NovaSeq 6000Dx obsahují zásobníky s těsnicí fólií předplněné reagenciemi, pufry a promývacím roztokem. Klastrové a SBS kazety jsou součástí sad reagencií NovaSeq 6000Dx. Kazeta s pufrem se prodává samostatně.

Kazety se zakládají přímo do přístroje a jsou barevně odlišeny a označeny tak, aby se omezil počet chyb při zakládání. Vodítka v chladicí jednotce reagencií a zásuvkách na pufr zajišťují správnou orientaci.

Tabulka 11 Kazety NovaSeq 6000Dx

Spotřební materiál	Popis
Kazeta s pufrem	Je předplněna sekvenačními pufry a váží až 6,8 kg. Plastová rukojeť usnadňuje přenášení, zakládání a vyjímání.
	Kazeta s pufrem obsahuje reagencie citlivé na světlo. Uchovávejte zásobník s pufrem zabalený až do použití.
Klastrová kazeta	Je předplněna klastrovacími a indexovacími reagenciemi a reagenciemi s párovými konci a rovně promývacím roztokem. Zahrnuje určenou pozici pro zkumavku knihovny. Oranžové označení odlišuje klastrovou kazetu od SBS kazety.
	Denaturační reagencie v pozici č. 30 obsahuje formamid, což je organický amid a reprodukční toxin. Tento zásobník je vyjímatelný, aby bylo možné po sekvenačním

běhu snáze zlikvidovat nepoužité reagencie.

Spotřební materiál	Popis
Kazeta	Předplněné sekvenační reagencie v objemech specifických pro počet cyklů, které
SBS	sada podporuje. Každá ze tří pozic pro reagencie má sousední pozici vyhrazenou
	pro automatické promývání po běhu. Oranžové označení odlišuje kazetu SBS od
6	klastrové kazety.
	Kazeta SBS obsahuje reagencie citlivé na světlo. Uchovávejte obal SBS zabalený
	až do použití.

Vyhrazené zásobníky klastrových kazet

Tři zásobníky jsou vyhrazeny pro vlastní primery a prázdná pozice je vyhrazena pro zkumavku knihovny. Z důvodu sledovatelnosti vzorků se zkumavka knihovny vkládá do klastrové kazety během nastavení cyklu a zůstává s ní až do konce běhu.

Obrázek 11 Číslované zásobníky



Tabulka 12 Zásobníky klastrových kazet

Pozice	Vyhrazeno pro
5, 6 a 7	Volitelné vlastní primery
8	Zkumavka knihovny

Spotřební materiál a vybavení dodávané uživatelem

Spotřební materiál	Dodavatel	Účel
Odstřeďovací lahvička, 500 ml	Dodavatel běžného laboratorního vybavení	Ředění roztoku Tween 20 pro udržovací promývání.
Odstřeďovací zkumavka, 30 ml	Dodavatel běžného laboratorního vybavení	Ředění NaOCI pro udržovací promývání.
Jednorázové rukavice, nepudrované	Dodavatel běžného laboratorního vybavení	Obecné účely.
Čisticí ubrousky s isopropylalkoholem (70%) nebo Vlhčené ubrousky s etanolem, 70 %	VWR, katalogové č. 95041-714 nebo ekvivalentní Dodavatel běžného laboratorního vybavení	Čištění komponent před během a pro obecné účely.
Laboratorní utěrky, netkané	VWR, katalogové č. 21905-026 nebo ekvivalentní	Sušení destičky průtokové kyvety a k obecným účelům.
NaOCI reagenční třídy, 5 %	Sigma-Aldrich, katalogové č. 239305	Provádění údržbového promývání.
Pipetovací špičky, 2 µl	Dodavatel běžného laboratorního vybavení	Pipetování pro ředění a vkládání knihoven.
Pipetovací špičky, 20 µl	Dodavatel běžného laboratorního vybavení	Pipetování pro ředění a vkládání knihoven.
Pipetovací špičky, 200 µl	Dodavatel běžného laboratorního vybavení	Pipetování pro ředění a vkládání knihoven.
Pipetovací špičky, 1000 µl	Dodavatel běžného laboratorního vybavení	Pipetování pro ředění a vkládání knihoven.
lsopropylalkohol (99 %) reagenční nebo spektrofotometrické třídy, 100ml lahvička	Dodavatel běžného laboratorního vybavení	Pravidelné čištění součástí optiky a čištění objektivu.
Tween 20	Sigma-Aldrich, katalogové č. P7949	Provádění údržbového promývání.
Voda, laboratorní jakost	Dodavatel běžného laboratorního vybavení	Ředění roztoku Tween 20 a chlornanu sodného pro udržovací promývání.

Tabulka 13 Spotřební materiál

Tabulka 14 Vybavení

Položka	Zdroj
Mraznička, -25 až -15 °C	Dodavatel běžného laboratorního vybavení
Odměrný válec, 500 ml, sterilní	Dodavatel běžného laboratorního vybavení
Kbelík na led	Dodavatel běžného laboratorního vybavení
Pipeta, 20 µl	Dodavatel běžného laboratorního vybavení
Pipeta, 200 µl	Dodavatel běžného laboratorního vybavení
Pipeta, 1000 μl	Dodavatel běžného laboratorního vybavení
Chladnička, 2 °C až 8 °C	Dodavatel běžného laboratorního vybavení
Nádoba, vodní lázně*	Dodavatel běžného laboratorního vybavení

* Použijte nádobu, která pojme dvě kazety s reagenciemi a odpovídající množství vody. Například 61 cm × 91,4 cm × 25,4 cm

Pokyny pro vodu laboratorní jakosti

Při provádění postupů na přístroji vždy používejte pouze vodu laboratorní jakosti nebo deionizovanou vodu. Nikdy nepoužívejte kohoutkovou vodu. Používejte pouze vodu následující nebo rovnocenné jakosti:

- Deionizovaná voda
- Illumina PW1
- Voda 18 megaohmů (MΩ)
- Voda Milli-Q
- Voda Super-Q
- Voda pro molekulární biologii
Konfigurace systému

Tato část obsahuje pokyny pro nastavení přístroje, včetně popisů nabídek přístroje a nastavení, která obsahují.

Spuštění přístroje

Při prvním zapnutí systému se spustí NVOS, včetně řady obrazovek, které vás provedou prvním nastavením. První nastavení zahrnuje provedení kontroly systému pro potvrzení výkonu přístroje a konfiguraci nastavení systému.

1. Stiskněte stranu vypínače () pro zapnutí na zadní straně přístroje.



2. Počkejte, dokud se tlačítko napájení na pravé straně přístroje nerozsvítí modře, a poté stiskněte tlačítko napájení.



- 3. Počkejte, dokud se nenačte operační systém. Pomocí ikony NVOS spusťte řídicí software. Po inicializaci systému se zobrazí přihlašovací obrazovka.
- 4. Zadejte uživatelské jméno a heslo správce, které vám poskytl zástupce společnosti Illumina při instalaci.

Vzdálený přístup

K rozhraní přístroje lze přistupovat na přístroji i vzdáleně pomocí kompatibilního prohlížeče. Pro vzdálený přístup k přístroji použijte adresu a informace o uživatelském účtu poskytnuté zástupcem společnosti Illumina. Kompatibilní prohlížeče jsou Chrome/Chromium, Edge, Firefox a Safari.

Nabídka Settings (Nastavení)

Pomocí ikony nabídky v levém horním rohu kterékoli obrazovky získáte přístup k následujícím nastavením.

Nastavení	Popis	Nabídka přístroje	Nabídka prohlížeče
Informace o platformě DRAGEN	Zobrazení informací o Server DRAGEN, včetně: • Nainstalované verze DRAGEN • Informace o licenci • Sériové číslo FPGA	X	X
Informace o přístroji	Zobrazení informací o přístroji, včetně: • Název přístroje • Verze NVOS • Sériové číslo • Dostupný prostor • Verze DRAGEN	X	
Protokol auditu	Zobrazení uživatelských protokolů, včetně: • Uživatelské jméno • Typ akce • Popis akce • Datum a čas akce	X	Х
DRAGEN	Úprava nastavení Server DRAGEN. Další informace naleznete v části <i>Konfigurace Server</i> <i>DRAGEN</i> na straně 38.	X	Х
Externí úložiště pro analýzu	Konfigurace externího úložiště.	Х	Х
Párování přístroje	Spárování přístroje s Server DRAGEN.	Х	
Nastavení přístroje	Zobrazení a úprava nastavení RUO, IVD a globálních nastavení.	Х	
Řízení procesu	Správa místa na disku.	Х	

Nastavení	Popis	Nabídka přístroje	Nabídka prohlížeče
Správa uživatelů	Zobrazení a úprava informací o uživateli. Další informace naleznete v části <i>Uživatelské účty</i> na straně 34.	X	X

Řízení procesu

Obrazovka Process Management (Řízení procesu) je přístupná z nabídky nastavení přístroje. Obrazovka slouží ke sledování průběhu běhu a správě místa na disku. Nikdy nemažte soubory a složky přímo z disku C:\\.

Na této obrazovce jsou uvedeny údaje o volném místu na disku, použitém místu na disku CE a C:\\ a stavu běhů využívajících místo na disku. Sloupce Run Date (Datum běhu) a Name (Název) identifikují každý běh. Pro každý běh obsahuje obrazovka Process Management (Řízení procesu) stav následujících procesů:

- Run Status (Stav běhu) na základě zpracování souborů CBCL.
- Server DRAGEN na základě přenosu souboru do Server Illumina DRAGEN pro NovaSeq 6000Dx.
- Network (Síť) na základě přenosu souboru pomocí služby Universal Copy Service.

Tabulka 15 Ikony stavu řízení procesu

Proces	lkona	Popis
Stav běhu	er • Running	Běh probíhá.
	C omplete	Běh dokončil sekvenování nebo analýzu.
Server DRAGEN	Uploading	Soubory se nahrávají do Server DRAGEN.
	Complete	Všechny soubory jsou nahrány do Server DRAGEN.

Proces	Ikona	Popis
Síť	Copying	Soubory se kopírují do výstupní složky v síti.
	Complete	Všechny soubory jsou zkopírovány do výstupní složky v síti.
	N/A	Neuplatňuje se, protože běh není nakonfigurován pro nahrání do výstupní síťové složky, nebo je stav nahrávání neznámý.

Další informace o řešení problémů s řízením procesů naleznete v části Řešení problémů na straně 71.

Uživatelské účty

Nastavení uživatelského účtu se nachází na obrazovce User Management (Správa uživatelů), která je přístupná prostřednictvím nabídky Settings (Nastavení) v přístroji a prostřednictvím prohlížeče. Na obrazovku User Management (Správa uživatelů) mají přístup pouze správci. Abyste mohli přístroj používat, musíte být přihlášeni.

Oprávnění aplikace

Nemůžete použít aplikaci, která vám nebyla přiřazena.

Hesla

Ve výchozím nastavení musí být hesla obnovována nejméně každých 180 dní. Správci mohou konfigurovat nastavení tak, aby byla vyžadována častější obnovení hesel. Heslo můžete změnit na obrazovce User Management (Správa uživatelů) nebo výběrem ikony uživatele v pravém horním rohu rozhraní.

Illumina neukládá ani neuchovává přihlašovací údaje zákazníka. Za zabezpečení hesla odpovídá uživatel.

Uživatelské role

Ve výchozím nastavení je novým uživatelským účtům přiřazena role uživatele. Role správce a operátora poskytují další oprávnění.

Tabulka 16 Uživatelská oprávnění

Oprávnění	Správce	Operátor	Uživatel
Udělení přístupu k funkcím	Х		
správce			

Oprávnění	Správce	Operátor	Uživatel
Konfigurace nastavení a oprávnění aplikace	Х		
Párování přístroje a serveru	Х		
Zahájení promývání	Х	Х	
Nastavení a spuštění běhů sekvenování	Х	Х	
Zobrazení probíhajících běhů sekvenování	Х	Х	Х
Ukončení a minimalizace aplikace	Х		
Přístup na obrazovku Process Management (Řízení procesů)	Х	Х	
Přístup k nastavení přístroje	Х		
Vypnutí přístroje	Х	Х	
Změna zapomenutých hesel	Х		
Zobrazení protokolu auditu přístroje	Х		

Nastavení přístroje

Obrazovka Instrument Settings (Nastavení přístroje) obsahuje tři karty: Global Settings (Globální nastavení), IVD Settings (Nastavení IVD) a RUO Settings (Nastavení RUO).

Global Settings (Globální nastavení)

Globální nastavení zahrnují následující možnosti:

- Instrument Mode (Režim přístroje) Umožňuje uživatelům přepínat mezi režimy IVD a RUO.
- **Proactive Support** (Proaktivní podpora) Slouží k přepnutí monitorování z proaktivní podpory.
- User Idle Timeout (Časový limit nečinnosti uživatele) Umožňuje nastavení doby nečinnosti před odhlášením uživatele.

IVD Settings (Nastavení IVD)

Nastavení IVD se uplatňují, když je přístroj v režimu IVD.

 Run Setup (Nastavení běhu) – Vyberte režim běhu. Další informace naleznete v části Konfigurace režimu běhu na straně 36. • **Output Location** (Výstupní umístění) – Vyberte umístění serveru pro výstup dat. Další informace o výstupu dat naleznete v části *Výstup dat a úložiště* na straně 36.

RUO Settings (Nastavení RUO)

Nastavení RUO zahrnují následující možnosti:

- Run Setup (Nastavení běhu) Vyberte režim běhu. Další informace naleznete v části Konfigurace režimu běhu na straně 36.
- Default Workflow Type (Výchozí typ pracovního postupu) Určuje, zda je pracovní postup NovaSeq Xp nastaven jako výchozí typ pracovního postupu. NovaSeq Xp je k dispozici pouze v režimu RUO.
- Output Location (Výstupní umístění) Vyberte umístění serveru pro výstup dat. Další informace o výstupu dat naleznete v části Výstup dat a úložiště na straně 36.
- BaseSpace Sequence HubProactive Support (Proaktivní podpora) Slouží k přepnutí monitorování z proaktivní podpory.

Konfigurace režimu běhu

Režim běhu se vybírá pomocí přepínače na obrazovkách Sequencing (Sekvenování), Runs (Běhy) a Applications (Aplikace). Výběrem možnosti **Instrument Settings** (Nastavení přístroje) v hlavní nabídce nastavte režim běhu před plánováním nebo zahájením běhu.

Illumina Run Manager

Naplánujte běh na Server DRAGEN.

- 1. Na obrazovce Instrument Settings (Nastavení přístroje) přejděte buď na kartu RUO Settings (Nastavení RUO) nebo IVD Settings (Nastavení IVD), a to v závislosti na požadovaném režimu.
- 2. Vyberte možnost Server DRAGEN.
- 3. Vyberte možnost **Save** (Uložit).

Režim ručního běhu

Vytvořte běh ručním zadáním informací o běhu do softwaru přístroje. Plánování ručního běhu je k dispozici pouze v režimu RUO.

- Na obrazovce Instrument Settings (Nastavení přístroje) přejděte na kartu RUO Settings (Nastavení RUO).
- 2. Vyberte možnost ručního nastavení běhu.
- 3. Zadejte nastavení indexu a vyberte Save (Uložit).

Výstup dat a úložiště

V následující tabulce jsou uvedeny typy souborů a minimální požadavky na úložiště pro sekvenační běh a sekundární analýzu. Tabulka obsahuje požadavky na běh s dvěma průtokovými kyvetami, a to pro každý typ průtokové kyvety.

U běhů s jednou průtokovou kyvetou jsou minimální požadavky na prostor polovinou těch, které jsou uvedeny v tabulce. Alternativní konfigurace běhu mají různé požadavky na skladování.

Typ souboru	Cyklus S2 300 (GB)	Cyklus S4 300 (GB)
CBCL	930	2800
Složka InterOp	2,3	7,0
FASTQ	1125	3387
BAM	1050	3160
gVCF a VCF	28	84

Úložiště namontovaná podle mapy používají úplnou cestu UNC. Nepoužívejte písmena ani symbolické odkazy.

Příklad použití dat

Následující tabulka uvádí příklad pro vytvoření infrastruktury, která podporuje data generovaná pomocí Přístroj NovaSeq 6000Dx. V tabulce jsou uvedeny možnosti ukládání dat pro sekvenační analýzu celého genomu pomocí BaseSpace Sequence Hub.

Příklady předpokládají, že běh s 300 cykly a dvěma průtokovými kyvetami S2 generuje 2 TB dat při míře využití 10 běhů měsíčně. Datové hodnoty pro S4 jsou extrapolovány z předpokladů pro S2.

- Upravte hodnoty v tabulce při nižší míře využití. Pokud očekáváte, že budete provádět opakovanou analýzu datových sad, přiměřeně zvětšete velikost úložiště.
- Vzhledem k tomu, že skutečné uchovávání údajů podléhá místním zásadám, před výpočtem potřeb úložiště si ověřte podmínky.
- Velikosti běhů se liší v závislosti na různých faktorech, mezi které patří délka a procento průchodu filtrem (PF). Účelem uvedených hodnot je poskytnout vodítko k určení relativního rozsahu dat.

Typ souboru	Časové období	Počet běhů	Cyklus S2 300 (TB)	Cyklus S4 300 (TB)
BAM	Měsíčně	10 běhů/měsíc na systém*	14	42
BAM	Ročně	120 běhů/rok na systém	168	504
VCF a gVCF	Měsíčně	10 běhů/měsíc na systém	0,3	0,9
VCF a gVCF	Ročně	120 běhů/rok na systém	3,6	10,8

* Úložiště pro zálohování a archivaci dat není zahrnuto.

Konfigurace Server DRAGEN

Obrazovka About Server DRAGEN (O systému) obsahuje informace o Server DRAGEN, včetně podrobností o serveru a licenčních informací. V nabídce Settings (Nastavení) vyberte možnost About Server DRAGEN (O systému) na přístroji nebo pomocí prohlížeče.

Požadavky na síť Server DRAGEN

NovaSeq 6000Dx vyžaduje připojení k Server DRAGEN. Server DRAGEN a NovaSeq 6000Dx jsou připojeny prostřednictvím místní sítě pomocí nezávislé IP adresy pro každý z nich. Minimální požadovaná rychlost síťového připojení mezi NovaSeq 6000Dx, Server DRAGEN a externím úložištěm je 1 Gb/s. Pro rychlejší přenos dat se doporučuje připojení 10 Gb/s pro Server DRAGEN a externí úložiště. Illumina Run Manager umožňuje řazení více analýz do fronty na Server DRAGEN.

Obrázek 12 Práce v síti NovaSeq 6000Dx-Server DRAGEN



Server vyžaduje přidělení jména domény v systému doménových jmen (DNS) uživatele. Názvu domény serveru se doporučuje přiřadit certifikáty TLS (Transport Layer Security), aby bylo zajištěno šifrování dat při přenosu v místní síti, ale tento krok není povinný. Pokud certifikáty TLS nelze poskytnout, systém vytvoří certifikáty vytvořené uživatelem.

Párování Server DRAGEN

Zástupce Illumina spáruje Přístroj NovaSeq 6000Dx s Server DRAGEN během počátečního nastavení. Pokud se server odpojí od přístroje, postupujte podle následujících pokynů. Pro dokončení párování je vyžadován uživatelský účet správce.

- 1. V nabídce Settings (Nastavení) vyberte možnost **Instrument Pairing** (Párování přístroje). Otevře se okno Instrument Pairing (Párování přístroje).
- 2. Zadejte název serverové domény.
- 3. Potvrďte důvěryhodný certifikát serveru a vyberte možnost Log In (Přihlásit se).
- 4. Přihlaste se pomocí platného uživatelského účtu správce.
- 5. Na obrazovce Confirm and Pair (Potvrdit a párovat) vyberte možnost Pair (Spárovat).

Hlavní nabídka

Hlavní nabídka se nachází na levé straně uživatelského rozhraní. Hlavní nabídka je vždy viditelná. Vidět není jen v přístroji, když probíhá nastavení běhu. Hlavní nabídka obsahuje ikony, které umožňují přístup k následujícím obrazovkám:

- **Sequencing** (Sekvenování) Z této obrazovky se spouští sekvenování nebo promývání. Obrazovka Sequencing (Sekvenování) je viditelná pro všechny uživatele.
- Runs (Běhy) Zde lze zobrazit plánované, aktivní a dokončené běhy. Běhy jsou viditelné pro všechny uživatele.
- Applications (Aplikace) Na této obrazovce je možné zobrazit nainstalované aplikace a přiřazovat oprávnění uživatelských aplikací. Aplikace jsou pro správce viditelné prostřednictvím přístroje a prohlížeče.

Běhy Obrazovka

Plánované běhy

Běhy plánované v Server DRAGEN se zobrazují na kartě Planned (Plánované) na obrazovce Runs (Běhy). Chcete-li upravit nebo odstranit plánovaný běh, vyberte běh a poté vyberte možnost Edit (Upravit) nebo ikonu odpadkového koše. Plánované běhy mohou být v jednom z následujících stavů:

- Draft (Koncept) Běh byl vytvořen, ale není k dispozici pro sekvenování.
- Planned (Plánováno) Běh byl vytvořen a je k dispozici pro zahájení sekvenování.
- **Needs Attention** (Vyžaduje pozornost) Existují problémy s během, které vyžadují zásah uživatele. Vyberte běh a buď jej upravte nebo chybu zamítněte. Stav se změní na Planned (Plánováno).
- Locked (Uzamčeno) V případě, že se vyskytne problém s přístrojem, běh se automaticky uzamkne. Chcete-li běh odemknout, vyberte jej a poté zvolte možnost Unlock (Odemknout).

Active Runs (Aktivní běhy)

Jakýkoli probíhající běh, který nedokončil všechny kroky sekvenování a analýzy, se zobrazí jako aktivní. Výběrem aktivního běhu můžete zobrazit další podrobnosti o stavu nebo zrušit analýzu.

Na kartě Active (Aktivní) se také zobrazují běhy s chybami, které zabránily dokončení běhu. Výběrem běhu zobrazíte chybová hlášení a analýzu opětovného zařazení běhu do fronty (je-li to možné).

Completed Runs (Dokončené běhy)

Dokončené běhy dokončily všechny kroky sekvenování a analýzy. Chcete-li zobrazit podrobnosti o běhu nebo znovu zařadit analýzu do fronty, vyberte příslušný běh.

Aplikace

Obrazovka Applications (Aplikace) umožňuje konfigurovat nastavení nainstalovaných aplikací a přiřazovat aplikace uživatelům. Přesná pole zobrazená na obrazovce Configuration (Konfigurace) se liší v závislosti na aplikaci, ale mohou zahrnovat následující:

- Název aplikace
- Verze aplikace
- Verze DRAGEN
- Library prep kits (Sady pro přípravu knihovny) vyberte výchozí sady pro přípravu knihovny, které budou použity s aplikací.
- Index adapter kits (Sady indexových adaptérů) vyberte výchozí sady indexových adaptérů, které budou použity s aplikací.
- Read type (Typ čtení) vyberte výchozí typ čtení.
- Read lengths (Délky čtení) vyberte výchozí délky čtení.
- Reference genome (Referenční genom) nahrajte a vyberte referenční genom, který se bude používat s aplikací.
- **Output file formats** (Formáty výstupních souborů) vyberte upřednostňované formáty výstupních souborů.
- Targeted regions list builder (Nástroj pro vytváření seznamu cílových regionů) nahrajte a vyberte jeden nebo více souborů cílových regionů, které budou použity s aplikací. Pro každou aplikaci musí být povolen alespoň jeden soubor.
- **Systematic noise file** (Systematický soubor šumu) nahrajte a vyberte jeden nebo více souborů šumu, které budou použity s aplikací. Pro každou aplikaci musí být povolen alespoň jeden soubor.

Uživatelská oprávnění aplikace

Oprávnění k aplikacím můžete uživatelům přiřadit v okně User Management (Správa uživatelů) nebo výběrem uživatelů při nastavování nové aplikace.

Síť a zabezpečení přístroje

Další informace o zabezpečení přístroje a síťových připojeních viz Zabezpečení a nastavení sítě řídicího počítače pro přístroje Illumina. Následující části obsahují informace o zabezpečení přístroje NovaSeq 6000Dx a jeho zapojení do sítě.

Společnost Illumina neinstaluje síťová připojení ani pro ně neposkytuje technickou podporu. Zkontrolujte aktivity údržby sítě, zda nemohou potenciálně představovat riziko pro kompatibilitu s přístrojem Přístroj NovaSeq 6000Dx.

Síťová připojení

Při instalaci a konfiguraci síťového připojení se řiďte následujícími pokyny:

- Propojte přístroj a systém správy dat vyhrazeným připojením o propustnosti 1 Gb/s. Připojení může být přímé nebo prostřednictvím síťového přepínače.
- Požadovaná šířka pásma pro připojení je následující:
 - 200 Mb/s/přístroj pro nahrávání prostřednictvím interní sítě
 - 200 Mb/s/přístroj pro nahrávání prostřednictvím sítě BaseSpace Sequence Hub
 - 5 Mb/s/přístroj pro nahrávání provozních údajů přístroje
- Přepínače musí být spravované.
- Síťová zařízení, jako jsou přepínače, musí mít šířku pásma nejméně 1 Gb/s.
- Vypočítejte celkovou kapacitu pracovního zatížení na každém síťovém přepínači. Kapacitu může ovlivnit počet připojených přístrojů a pomocného vybavení, jako jsou například tiskárny.
- Pokud je to možné, izolujte přenosy sekvenačních dat od ostatních síťových přenosů.
- Illumina doporučuje použití kabelů CAT-6 (minimální požadavek je CAT-5e). S přístrojem je dodáván stíněný síťový kabel o délce 3 metry, který slouží k připojení k síti.

Zapojení řídicího počítače

Aby systém správně fungoval, vyhraď te rozsahy IP adres 169.254/16 a IPv6 fddc:65e5:66fa::*.

Obrázek 13 Ilustrace sítě



POZNÁMKA CE není na hostitelské síti viditelná.

Vnitřní připojení

Tabulka 17 Vnitřní připojení

Připojení	Hodnota	Účel
Doména	localhost:*	Všechny porty pro komunikaci mezi lokálními hostiteli, které isou potřebné
		pro komunikaci mezi procesy.

Připojení	Hodnota	Účel
Port	5555	Rozhraní hardwarového ovladače
	9030	Analýza v reálném čase
	8080	Obslužný software NovaSeq
	29644	Universal Copy Service
	22, 80, 111, 443, 623, 2049, 5900, 8889, 9980, fddc:65e5:66fa::1/48, fddc:65e5:66fa::2/48	Přenos dat
	29000	Orchestrátor přístroje

Odchozí připojení

Informace o odchozím připojení zahrnují informace o doméně a IP adrese pro konfiguraci přístupu k doménám BaseSpace Sequence Hub, Illumina Proactive, aktualizacím softwaru a nahrávání dat o běhu a provozních údajů.

Tabulka 18 IP adresy a porty

Komponenta	ТСР	UDP	IP
BMC	22,80,443,623,5900,8889	623	169.254.0.2
NFS	111,2049	111,2049	fddc:65e5:66fa::2/48 fddc:65e5:66fa::1/48
CE	22,9980	Není k dispozici	169.254.0.1
Hardwarové ovladače	Není k dispozici	Není k dispozici	169.254.x.x/16

Antivirový software

Důrazně doporučujeme chránit řídicí počítač přístroje proti virům pomocí antivirového softwaru dle vaší volby.

Tento antivirový software nakonfigurujte následujícím způsobem, abyste předešli ztrátě dat nebo provozním výpadkům.

- Nastavte ruční spouštění kontrol. Nepovolujte automatické spouštění kontrol (vyhledávání virů).
- Kontroly spouštějte ručně jen v době, kdy přístroj není v provozu.

- Aktualizace nastavte tak, aby se stahovaly bez povolení uživatelem, ale *bez instalace*.
 - Antivirový software nainstalujte pouze tehdy, když se přístroj nepoužívá a počítač je možné restartovat.
 - Nedovolte, aby se počítač po instalaci automaticky restartoval.
- Vylučte složku aplikace a její datové jednotky z ochrany souborového systému v reálném čase.

Protokol

Tato část obsahuje podrobné pokyny, jak připravit spotřební materiál a nastavit běh sekvenování. Před zahájením běhu sekvenování zkontrolujte všechny informace v části *Bezpečnost a soulad s předpisy* na straně 7.

Vytvoření běhu sekvenování

Pomocí následujících kroků vytvoříte pomocí softwaru Illumina Run Manager běh v režimu IVD nebo RUO. Případně vyberte možnost **Import Run** (Importovat běh) na kartě Planned (Plánované) na stránce Runs (Běhy) a importujte seznam vzorků. Nové běhy můžete vytvářet buď na přístroji, nebo prostřednictvím softwaru Illumina Run Manager prostřednictvím prohlížeče na počítači připojeném k síti.

POZNÁMKA Přesné informace požadované každou aplikací analýzy se liší, ale proces vytvoření běhu zahrnuje následující kroky.

- 1. Na kartě Planned (Plánované) na obrazovce Runs (Běhy) vyberte možnost **Create Run** (Vytvořit běh).
- 2. Vyberte aplikaci a poté vyberte Next (Další).
- 3. Pokračujte přes obrazovky nastavení. V závislosti na aplikaci mohou zobrazené obrazovky zahrnovat následující:
 - Run Settings (Nastavení běhu) Zadejte parametry běhu.
 - Sample Data (Data vzorků) Zadejte data vzorků ručně nebo importem souboru CSV, který obsahuje informace o vzorcích. Názvy vzorků musí být jedinečné.
 - Analysis settings (Nastavení analýzy) Zadejte nastavení analýzy.
- 4. Na obrazovce Review (Kontrola) zkontrolujte informace o běhu a vyberte možnost **Save** (Uložit). Běh se přidá do horní části seznamu běhů na kartě Planned (Plánované).

Příprava spotřebního materiálu

Rozmrazování SBS a klastrových kazet



UPOZORNĚNÍ

Použití horké vody k rozmrazování reagencií může způsobit snížení kvality dat nebo selhání cyklu.

1. Pokud probíhá sekvenování, ujistěte se, že jsou po dokončení rozmrazování k dispozici obě strany přístroje.

- 2. Vyjměte SBS a klastrové kazety ze skladovacích prostor s teplotou -25 až -15 °C.
- Každou kazetu vložte do drátěného rozmrazovacího stojanu.
 Stojany jsou dodávány s přístrojem a zabraňují převrácení ve vodní lázni.

Obrázek 14 Kazety v drátěných rozmrazovacích stojanech



Pomocí následující tabulky určete dobu rozmrazování.
 SBS a klastrové kazety rozmrazte ve vodní lázni při pokojové teplotě (19 °C až 25 °C) následujícím způsobem. Kazety ponořte přibližně do poloviny.

Kazeta	Doba rozmrazování
Kazeta SBS S2	4 hodiny
Klastrová kazeta S2	Až 2 hodiny
Kazeta SBS S4	4 hodiny
Klastrová kazeta S4	Až 4 hodiny



UPOZORNĚNÍ

Pokud sekvenování nezahájíte do čtyř hodin od rozmrazení kazet s reagencií, může to mít za následek sníženou kvalitu dat.

- 5. Základny kazet důkladně osušte papírovými utěrkami. Vysušte prostor mezi jamkami, abyste odstranili veškerou vodu.
- 6. Zkontrolujte, zda na fóliových těsněních není voda. Pokud je přítomna voda, osušte hadříkem nepouštějícím vlákna.
- 7. Zkontrolujte spodní stranu každé kazety a ujistěte se, zda jsou zásobníky bez ledu, což znamená, že činidla jsou rozmražená.
- 8. Desetkrát každou kazetu převraťte, aby se reagencie promíchaly.



UPOZORNĚNÍ

Nedostatečné převrácení kazet může mít za následek snížení kvality dat.

9. Opatrně poklepejte spodní stranou každé kazety o pracovní stůl, abyste zmenšili počet vzduchových bublinek.

Načtení zkumavky knihovny

- 1. Aniž byste narušili knihovnu na dně, vložte nezakrytou zkumavku s denaturovaným a naředěným fondem knihovny do pozice **Library Tube** (Zkumavka knihovny) (č. 8) klastrové kazety.
- 2. Vložte zkumavku knihovnu do pozice č. 8 kazety clusteru.

Obrázek 15 Nezakrytá zkumavka knihovny načtená do polohy č. 8



Prázdné použité lahvičky reagencií

Následující pokyny použijte k vyprázdnění použitých lahviček s reagenciemi při *každém* sekvenování. Pokud je systém nakonfigurován k externímu směrování použitých reagencií, malá lahvička shromažďuje použité reagencie a musí být vyprázdněna pro každý běh sekvenování. Velká lahvička musí být na místě.

- 1. Vyjměte a vyprázdněte malou lahvičku s použitou reagencií podle následujícího postupu.
 - a. Zvedněte páčku a vyjměte malou lahvičku s použitou reagencií z výklenku. Uchopte lahvičku za obě strany.
 - b. Sejměte závitový uzávěr z držáku na přední straně lahvičky.
 - c. Uzavřete otvor lahvičky uzávěrem, aby nedošlo k rozlití.
 - Obsah uchovávejte odděleně od obsahu druhé lahvičky a zlikvidujte jej v souladu s platnými normami pro váš region.
 - e. Vraťte neuzavřenou lahvičku do výklenku a poté posuňte páčku dolů. Uzávěr uložte do držáku.
- 2. Vyjměte a vyprázdněte velkou lahvičku s použitou reagencií podle následujícího postupu.
 - a. Pomocí horní rukojeti vyjměte velkou lahvičku s použitou reagencií z levé strany zásuvky pro pufr.
 - b. Sejměte závitový uzávěr z držáku na přední straně lahvičky.
 - c. Uzavřete otvor lahvičky uzávěrem, aby nedošlo k rozlití.

- d. Obsah zlikvidujte v souladu s platnými normami pro váš region. Při vyprazdňování uchopte obě rukojeti.
- e. Vraťte neuzavřenou lahvičku do zásuvky s pufrem. Uzávěr uložte do držáku.

Obrázek 16 Vrácení prázdné lahvičky



3. Nasaďte si nový pár nepudrovaných rukavic.



UPOZORNĚNÍ

Po manipulaci s lahvičkou s použitou reagencií si vždy nasaďte nový pár rukavic.

4. Zavřete zásuvku pufru a poté zavřete dvířka prostoru na tekutiny.



UPOZORNĚNÍ

Nevyprázdnění použitých lahviček s reagenciemi může mít za následek ukončení běhu a přetečení, které poškodí přístroj a představuje bezpečnostní riziko.

Příprava průtokové kyvety

- 1. Z úložiště s teplotou 2–8 °C vyjměte krabici s novou průtokovou kyvetou.
- Odložte uzavřený obal průtokové kyvety stranou při okolní teplotě (19 °C až 25 °C) na 10–15 minut. Průtokovou kyvetu použijte do 12 hodin od vyjmutí z obalu.

Vkládání spotřebního materiálu

Následující pokyny použijte k zahájení postupu nastavení cyklu a vložení spotřebního materiálu.

- 1. V hlavní nabídce vyberte možnost **Sequence** (Sekvenovat) a poté vyberte jeden nebo dva cykly průtokové kyvety následujícím způsobem.
 - A+B Nastavení běhu duální průtokové kyvety.
 - A Nastavení běhu s jednou průtokovou kyvetou na straně A.

• **B** – Nastavení běhu s jednou průtokovou kyvetou na straně B.

Systém zahájí nastavení cyklu a začne založením průtokové kyvety.

2. Výběrem tlačítka **OK** potvrďte varování a otevřete dvířka průtokové kyvety.



UPOZORNĚNÍ

Během sekvenačního běhu udržujte povrch čistý a neopírejte se o přístroj. Tlak na dvířka průtokové kyvety může způsobit jejich otevření, což zastaví běh. V zastavených bězích nelze pokračovat.

Vložení průtokové kyvety

- 1. Pokud je přítomna, vyjměte průtokovou kyvetu z předchozího běhu.
- 2. Pokud jsou na destičce průtokové kyvety viditelné částice, očistěte celou fázi, včetně fluidního rozhraní a skleněného povrchu optického vyrovnávacího cíle, a to ubrouskem napuštěným alkoholem. Osušte hadříkem nepouštějícím vlákna.

Obrázek 17 Destička průtokové kyvety



- 3. Z obalové fólie vyjměte průtokovou kyvetu následovně.
 - a. Nasaďte si nový pár nepudrovaných rukavic, abyste zabránili znečištění skleněného povrchu průtokové kyvety.
 - b. Balení položte na rovnou plochu a odlepte fólii od rohového jazýčku.
 - c. Odstraňte průhledný plastový držák zakrývající průtokovou kyvetu.
 - d. Vyjměte průtokovou kyvetu z obalu. Uchopte průtokovou kyvetu za strany, abyste se nedotkli skla nebo těsnění na spodní straně.
 - e. Pokud jsou na některém ze skleněných povrchů viditelné částice, očistěte příslušný povrch ubrouskem napuštěným alkoholem, který nepouští vlákna, a osušte laboratorním papírem s nízkým obsahem vláken.
 - f. Obal vhodně zlikvidujte.
- 4. Zarovnejte průtokovou kyvetu podle čtyř zarovnávacích svorek a umístěte ji na destičku průtokové kyvety.



Obrázek 18 Založené průtokové kyvety zarovnané přes svorky

Vyberte možnost Close Flow Cell Door (Zavřít dvířka průtokové kyvety).
 Dvířka průtokové kyvety se automaticky zavřou, na obrazovce se zobrazí ID průtokové kyvety a proběhne kontrola senzorů.

Založení SBS a klastrových kazet

- 1. Otevřete dvířka prostoru pro kapaliny a poté otevřete dvířka chladicího prostoru pro reagencie.
- 2. Pokud v přihrádce zůstala použitá kazeta SBS a klastrová kazeta z předchozího běhu, vyjměte je. Použité kazety mají propíchnuté fóliové těsnění.
- Nepoužitý obsah zlikvidujte v souladu s platnými místními normami.
 Informace o bezpečné likvidaci pozice č. 30 kazety klastru naleznete v části *Odpojovací pozice č.* 30 na straně 55.
- 4. Připravené kazety vložte do zásuvky chladicí jednotky reagencií následujícím způsobem tak, aby štítky s nápisem Insert (Vložit) směřovaly k zadní části přístroje.
 - Kazetu SBS (šedý štítek) umístěte do levé polohy.
 - Umístěte klastrovou kazetu (oranžový štítek) obsahující neuzavřenou zkumavku s knihovnou do správné polohy.

Obrázek 19 Vložené kazety reagencií



Zasuňte zásuvku do chladicí jednotky a zavřete dvířka chladicí jednotky reagencií.
 Zkontrolují se senzory a RFID. Na obrazovce se zobrazí ID pro zkumavku knihovny a dvě kazety.

Vložení kazety s pufrem

- 1. Zatažením za kovovou rukojeť otevřete zásuvku pufru.
- Vyjměte použitou kazetu s pufrem z pravé strany zásuvky pufru. Použitá kazeta s pufrem má propíchnuté fóliové těsnění.
- Vložte novou kazetu s pufrem do zásuvky tak, aby Illumina štítek směřoval k přední straně zásuvky. Vyrovnejte kazetu s vyvýšenými vodítky na dně a bocích zásuvky.
 Při správném vložení je zásobník rovnoměrně usazen a zásuvku lze zavřít.

Obrázek 20 Vložení kazety s pufrem



4. Pokud byly vyprázdněny obě použité lahvičky s reagenciemi, zaškrtněte políčko potvrzující, že obě použité lahvičky s reagenciemi jsou prázdné.

POZNÁMKA

Nevyprázdnění použitých lahviček s reagenciemi může mít za následek ukončení běhu a přetečení, které poškodí přístroj a představuje bezpečnostní riziko.

5. Po přidání spotřebního materiálu pokračujte výběrem možnosti Run Selection (Výběr běhu).

Výběr a spuštění běhu

Přístroj naskenuje ID zkumavky knihovny a vyhledá odpovídající plánovaný běh.

- 1. Pokud je pro každou použitou stranu nalezen plánovaný běh odpovídající ID zkumavky knihovny, výběr běhů je přeskočen. Pokračujte výběrem možnosti **Review** (Kontrola).
- Pokud pro jednu nebo obě strany neexistuje odpovídající běh, vyberte možnost Run Selection (Výběr běhu) a poté vyberte jeden nebo více plánovaných běhů. Stejný plánovaný běh nelze vybrat na obou stranách.
- 3. Když je vybrán jeden nebo několik běhů, vyberte **Pre-Run Checks** (Kontroly před spuštěním běhu).

Počkejte přibližně 5 minut na dokončení kontroly před spuštěním běhu.
 Běh se spustí automaticky po úspěšném dokončení.

POZNÁMKA Aby nedošlo k nadměrnému využití kapacity pevného disku, nekopírujte po spuštění běhu žádná data do složky C:\\.

Chyby kontroly před spuštěním běhu

Další informace o chybách kontroly před spuštěním běhu naleznete v části *Řešení problémů* na straně 71.

- 1. Pokud kontroly před spuštěním běhu selžou z důvodu chyby snímače, například není zjištěna průtoková kyveta, je nutné pracovní postup ukončit a restartovat.
- U ostatních selhání kontroly před spuštěním běhu vyberte možnost Retry (Opakovat) pro opětovné spuštění neúspěšné kontroly nebo Retry All (Opakovat vše) pro opětovné spuštění všech kontrol. Chyby je nutné před spuštěním běhu vyřešit.
- 3. Výběrem ikony Error (Chyba) zobrazíte podrobnosti o chybě.
- 4. Pokud kontrola zarovnání selže, vyřešte chybu následujícím způsobem.
 - a. Pro návrat na Load (Načítání) zvolte **Reload** (Znovu načíst) a poté **OK**.
 - b. Odstraňte všechny položky z horní části přístroje a poté vyberte **OK**. Otevřou se dvířka průtokové kyvety.
 - c. Znovu vložte průtokovou kyvetu a vyberte možnost Run Setup (Nastavení běhu).
 - d. Pokračujte přes všechny obrazovky, aby se znovu načetlo každé RFID, a vraťte se na obrazovku Pre-Run Checks (Kontroly před spuštěním běhu).
 - e. Znovu proveď te kontrolu.

Sledování postupu běhu

Během prováděného běhu se na obrazovce Sequencing (Sekvenování) zobrazují následující podrobnosti. Obrazovka Sequencing (Sekvenování) je přístupná z hlavní nabídky.

- Stav jednotlivých kroků běhu
- Time to completion (Čas do dokončení) Datum a čas dokončení běhu (rrrr-mm-dd hh:mm).
- Run progress (Průběh běhu) Aktuální krok běhu. Velikost proužku postupu neodpovídá rychlosti běhu každého kroku.
- **Q-scores** (Skóre kvality) Zobrazuje distribuci skóre kvality (Q-score).
- Intensity (Intenzita) Zobrazuje hodnotu klastrů intenzity 90. percentilu pro každou dlaždici. Barvy grafů označují červené a zelené kanály.
- Clusters passing filter (%) (Klastry procházející filtrem (%)) Zobrazuje procento klastrů, které procházejí filtrem.

- Projected Total Yield (GB) (Předpokládaný celkový výtěžek (GB)) Předpokládaný výtěžek za běh průtokové kyvety. Pokud jsou zvoleny metriky vztažené na dráhu (H), zobrazené hodnoty představují aktuální výtěžek na dráhu a v průběhu běhu se aktualizují podle cyklu.
- **Q30** Procento přiřazení báze pro běh, které mají skóre kvality \ge 30.

Stavové ikony

Stavová ikona na rozhraní NVOS značí stav běhu. Číslo na ikoně signalizuje počet podmínek daného stavu.

Když se změní stav běhu, ikona se rozbliká. Chcete-li získat popis tohoto stavu, vyberte ikonu. Výběrem možnosti **Acknowledge** (Potvrdit) zprávu vymažete a následně zavřete dialogové okno pomocí možnosti **Close** (Zavřít).

Stavová ikona	Název stavu	Popis
	Stav v pořádku	Systém je normální.
	Zpracování	Systém provádí zpracování.
A	Varování	Došlo k varování a je vyžadována vaše pozornost. Varování nezastaví běh ani nevyžadují nápravnou akci, které by podmiňovala další pokračování.
0	Chyba	Došlo k chybě. Chyby vyžadují nápravnou akci, než bude možné pokračovat v běhu.
i	Informace	K dispozici je nekritická zpráva.

Metriky běhu

Software zobrazuje metriky generované během běhu. Metriky se zobrazují ve formě diagramů, grafů a tabulek založených na datech generovaných pomocí RTA3 a zapsaných do souborů InterOp.

Klastrování trvá přibližně 2 hodiny, poté sekvenování začíná 1. cyklem. Metriky jsou v průběhu sekvenování aktualizovány. Klastry procházející filtrem, výtěžek a skóre kvality jsou k dispozici po 26. cyklu. Před 26. cyklem nejsou vyplněny žádné hodnoty a jsou označeny jako neplatné.

Postupné zahájení běhů

Běh můžete nastavit a spustit na nečinné straně přístroje, zatímco na druhé straně probíhá jiný běh. Toto nastavení se označuje jako postupné zahájení. Postupné běhy jsou nastaveny v určitých časech během běhu, jak je indikováno následujícími stavy časovače odpočítávání spuštění.

- Run Start: Available (Spuštění běhu: k dispozici) je k dispozici postupné zahájení. Datum a čas ukazují, kdy bude postupné zahájení nedostupné. Výběrem možnosti Sequence (Sekvenovat) spustíte nový postupný běh, jakmile dojde k dokončení aktuálního cyklu.
- **Run Start: Unavailable** (Spuštění běhu: není k dispozici) Postupné zahájení není k dispozici. Datum a čas ukazují, kdy bude postupné zahájení k dispozici na druhé straně přístroje.
- Waiting... (Čekání...) Pokud dojde k pokusu o nový běh, když není k dispozici postupné zahájení, změní se stav na Waiting (Čekání) a datum a čas zobrazí přibližný čas, kdy bude přístroj připraven na nový běh. Když je postupné zahájení k dispozici, přístroj pokračuje k nastavení běhu.

Když nastavíte nový běh, software se podle potřeby automaticky pozastaví a obnoví běh na sousední průtokové kyvetě. Když je systém pozastaven, uvede se do bezpečného stavu.

Postup

 Na domovské obrazovce vyberte možnost Sequence (Sekvenovat) a poté vyberte možnost A nebo B.

Zvolená strana musí být aktuálně nečinná strana.

- Počkejte, dokud se nepozastaví běh na sousední průtokové kyvetě. Chcete-li zrušit nový běh a zabránit pozastavení, vyberte možnost **Cancel** (Zrušit).
 Pokud sousední běh provádí tvorbu klastru, resyntézu párového konce, zobrazování nebo promývání, software dokončí aktuální krok a pozastaví se.
- Nový běh nastavte, když je sousední běh pozastaven a otevřou se dvířka průtokové kyvety.
 Po zahájení nového běhu se pozastavený běh automaticky obnoví a poté se zahájí nový běh.

Po sekvenování

Následující části uvádějí pokyny ke krokům, které proběhnou po dokončení sekvenování.

Automatické promytí po běhu

Po dokončení sekvenování software spustí automatické promytí po běhu, které trvá přibližně 80 minut. Systém načerpá 0,24% chlornan sodný (NaOCI) z polohy č. 17 a zředí jej na 0,12 %. 0,12% NaOCI je čerpán do pozic reagencií a knihovny ExAmp přes průtokovou kyvetu a poté do lahviček použitých reagencií. Promývací roztok vypláchne templát ze systému, aby se zabránilo zkřížené kontaminaci. Po dokončení promývání se systém uvede do bezpečného stavu a aktivuje se tlačítko Home (Domů). Ponechte spotřební materiál na místě až do dalšího běhu. Po promytí nasávací trubičky zůstávají v SBS a kazetách clusteru, aby se do systému nedostal vzduch. Nasávací trubičky v kazetě s pufrem jsou zvednuté, aby bylo možné vyprázdnit použité lahvičky reagencií. Poté se přes všechna vedení přečerpá promývací pufr, aby se ze systému odstranil NaOCI a reagencie.

POZNÁMKA Pokud dojde k chybě během automatického promývání po běhu a promývání po běhu je neúplné, je nutné provést údržbové promývání.

Odpojovací pozice č. 30

Zásobník v pozici č. 30 kazety klastru obsahuje formamid. Je třeba jej odebrat z použité klastrové kazety a zlikvidovat samostatně.



UPOZORNĚNÍ

Tato sada reagencií obsahuje potenciálně nebezpečné chemické látky. Vdechováním, požitím, stykem s kůží a vniknutím do očí může dojít k poranění. Používejte ochranné pomůcky včetně ochranných brýlí, rukavic a laboratorního pláště, které jsou adekvátní pro možná rizika. S použitými reagenciemi nakládejte jako s chemickým odpadem a zlikvidujte je v souladu se zákony a normami platnými ve vaší zemi. Další informace týkající se ochrany životního prostředí, zdraví a bezpečnosti práce naleznete v bezpečnostních listech (SDS) na stránce support.illumina.com/sds.html.

- 1. V rukavicích zatlačte bílý plastový jazýček s nápisem **Detach after use** (Odpojit po použití) doprava.
- 2. Položte ruku nebo pevný povrch pod nádržku a stiskněte průhledný plastový jazýček směrem ke štítku Illumina, aby se nádržka uvolnila zpod kazety klastru.

POZNÁMKA Při skladování se vyhněte ukládání kazet na sebe. Mohly by dojít k náhodnému odpojení zásobníku.

Obrázek 21 Vyjímatelná pozice č. 30



- A. Bílý plastový jazýček k odpojení
- B. Průhledný plastový jazýček k odpojení
- 3. Zásobník zlikvidujte v souladu s platnými místními normami.

Výstupní data sekvenování

Během sekvenování se data automaticky přenášejí z Přístroj NovaSeq 6000Dx do Server DRAGEN. Po dokončení primární analýzy a přenosu dat může sekundární analýza prováděná na Server DRAGEN začít automaticky s použitím možností analýzy definovaných aplikací vybranou v Illumina Run Manager. Získané výsledky závisí na možnostech zvolených během nastavení běhu. Chcete-li zobrazit výsledky z běhu, vyberte požadovaný název běhu na kartě Completed (Dokončeno) na obrazovce Runs (Běhy). Výstupní soubory naleznete také v umístění uvedeném na obrazovce Instrument Settings (Nastavení přístroje).

Analýza v reálném čase

Přístroj NovaSeq 6000Dx využívá software RTA3, který je implementací softwaru Analýza v reálném čase na výpočetním modulu (CE) přístroje. RTA3 extrahuje intenzity z obrazů získaných z kamery, přiřazuje báze, přiřazuje skóre kvality přiřazením bází, provádí zarovnání s kontrolou PhiX a vykazuje data v souborech InterOp.

Za účelem optimalizace doby zpracování ukládá software RTA3 informace do paměti. Dojde-li k ukončení softwaru RTA3, zpracování nepokračuje a případná zpracovávaná data běhu jsou z paměti ztracena.

Vstupy softwaru RTA3

RTA3 aby v místní paměti systému byly obrazy dlaždic za účelem zpracování. RTA3 přijímá informace o běhu a příkazy ze softwaru NVOS.

Výstupy softwaru RTA3

RTA3Obrazy pro každý kanál jsou v paměti předávány do softwaru jako dlaždice. Z těchto obrazů vytváří software RTA3 jako výstup sadu souborů přiřazení báze a souborů filtrů se skóre kvality. Všechny ostatní výstupy jsou podpůrné výstupní soubory.

Typ souboru	Popis
Soubory přiřazení báze	Každá analyzovaná dlaždice je uvedena v souboru zřetězeného přiřazení báze (*.cbcl). Dlaždice ze stejné dráhy a povrchu jsou agregovány do jednoho souboru CBCL pro každou dráhu a povrch.
Soubory filtrů	Každá dlaždice produkuje soubor filtru (*.filter). Ten určuje, zda klastr prochází filtry.

Software RTA3 poskytuje metriky kvality běhu v reálném čase uložené jako soubory InterOp, které jsou binárním výstupem obsahujícím metriky dlaždice, cyklu a úrovně čtení.

Nakládání s chybami

Software RTA3 vytváří soubory protokolů a zapisuje je do složky Logs (protokoly). Chyby jsou zaznamenávány do textového souboru ve formátu *.log.

Následující soubory protokolu jsou na konci zpracování přesunuty do finální výstupní složky:

- Soubor info_00000.log shrnuje důležité události běhu.
- Soubor error 00000.log obsahuje chyby, ke kterým došlo během běhu.
- Soubor warning_00000.log obsahuje varování, ke kterým došlo během běhu.

Dlaždice průtokové kyvety

Dlaždice jsou malé zobrazovací oblasti na průtokové kyvetě. Kamera pořídí jeden snímek každého záběru, který software rozdělí na dlaždice pro zpracování softwarem RTA3. Celkový počet dlaždic závisí na tom, kolik drah, záběrů a povrchů je zobrazeno na průtokové kyvetě.

- Průtokové kyvety S2 mají celkem 1408 dlaždic.
- Průtokové kyvety S4 mají celkem 3744 dlaždic.

Komponenta průtokové kyvety	S2	S4	Popis
Dráhy	2	4	Dráha představuje fyzický kanál se vstupními a výstupními porty.
Povrchy	2	2	Průtokové kyvety S2 a S4 jsou snímány na dvou površích: na horním a dolním. Horní povrch dlaždice je nasnímán jako první.
Záběry na dráhu	4	6	Záběr představuje sloupec v dráze průtokové kyvety, který kamera zachytí jako jeden naskenovaný snímek.
Dlaždice na záběr	88	78	Dlaždice je část záběru, která znázorňuje zobrazovanou oblast na průtokové kyvetě.
Celkový počet vygenerovaných dlaždic	1408	3744	Celkový počet dlaždic se rovná součinu dráhy × povrchy × záběry × dlaždice na záběr.

Název dlaždice je pětimístné číslo, které představuje polohu dlaždice na průtokové kyvetě. Například název dlaždice 1_1205 označuje dráhu 1, horní povrch, záběr 2, dlaždici 5.

- První číslice je číslo dráhy:
 - 1 nebo 2 pro průtokovou kyvetu S2.
 - 1, 2, 3 nebo 4 pro průtokovou kyvetu S4.

- Druhá číslice představuje povrch: 1 znamená horní povrch, 2 spodní.
- Třetí číslice představuje číslo záběru:
 - 1, 2, 3 nebo 4 pro průtokovou kyvetu S2.
 - 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6 pro průtokovou kyvetu S4.
- Poslední dvě číslice představují číslo dlaždice. Číslování začíná číslem 01 na výstupním konci průtokové kyvety a končí číslem 88 či 78 na vstupním konci.
 - 01 až 88 pro průtokovou kyvetu S2.
 - 01 až 78 pro průtokovou kyvetu S4.

Pracovní postup softwaru Real-Time Analysis

Registrace	Zaznamená umístění každého klastru na vzorované průtokové kyvetě.
Extrakce intenzity	Určuje hodnotu intenzity pro jednotlivé klastry.
Oprava fázování I	Opravuje efekty fázování a předfázování.
Přiřazení báze	Určuje přiřazení báze na cyklus pro každý klastr.
Vyhodnocování kvality	Přiřazuje skóre kvality ke každému přiřazení báze.

Registrace

Registrace zarovná obraz k otočené čtvercové oblasti nanoprvků na vzorované průtokové kyvetě. Z důvodu seřazeného uspořádání nanoprvků jsou souřadnice X a Y pro každý klastr v dlaždici předem určeny. Polohy klastrů jsou zapsány pro každý běh v souboru umístění klastrů (s.locs).

Pokud se u některých obrazů v cyklu registrace nezdaří, pro dotyčnou dlaždici v cyklu se nevytvoří žádná přiřazení databáze.

Extrakce intenzity

Extrakce intenzity vypočítá po registraci hodnotu intenzity pro každý nanoprvek v daném obraze. Pokud se registrace nezdaří, nelze intenzitu dané dlaždice extrahovat.

Oprava fázování

Během sekvenační reakce se jednotlivá vlákna DNA v klastru prodlouží o jednu bázi na cyklus. K fázování a předfázování dochází, když se vlákno dostane mimo fázi s aktuálním cyklem začleňování. K fázování dochází, když se zpozdí začleňování báze. K předfázování dochází, když začleňování báze poskočí dopředu.

Obrázek 22 Fázování a předfázování



- A. Čtení s bází, která fázuje.
- B. Čtení s bází, která předfázuje.

RTA3 opravuje účinky fázování a předfázování, což maximalizuje kvalitu dat v každém cyklu během běhu.

Přiřazení báze

Přiřazení báze určuje bázi (A, C, G nebo T) pro každý klastr dané dlaždice v konkrétním cyklu. Přístroj NovaSeq 6000Dx používá dvoukanálové sekvenování, které vyžaduje k zakódování dat pro 4 báze DNA pouze dva snímky, jeden ze zeleného a jeden z červeného kanálu.

Pokud nedojde k přiřazení, je to označeno jako N. K nepřiřazení dochází, když klastr nevyhoví filtru, když se nezdaří registrace nebo když se klastr posune mimo obraz.

Intenzity jednotlivých klastrů jsou extrahovány z červených a zelených obrazů a vzájemně porovnány. Výsledkem jsou čtyři samostatné populace. Každá populace odpovídá bázi. Proces přiřazení báze určuje, do které populace každý klastr patří.

Obrázek 23 Vizualizace intenzit klastrů



Báze	Červený kanál	Zelený kanál	Výsledek
A	1 (zapnuto)	1 (zapnuto)	Klastry, které vykazují intenzitu v červených i zelených kanálech.
С	1 (zapnuto)	0 (vypnuto)	Klastry, které vykazují intenzitu pouze v červeném kanálu.
G	0 (vypnuto)	0 (vypnuto)	Klastry, které nevykazují intenzitu v žádném známém umístění klastrů.
Т	0 (vypnuto)	1 (zapnuto)	Klastry, které vykazují intenzitu pouze v zeleném kanálu.

Tabulka 19 Přiřazení báze při dvoukanálovém sekvenování

Klastry procházející filtrem

Během běhu RTA3 filtruje nezpracovaná data, aby odebral čtení, která nedosahují prahové hodnoty kvality dat. Klastry, které se překrývají nebo mají nízkou kvalitu, budou odebrány.

V případě dvoukanálové analýzy využívá RTA3 systém založený na populacích, aby určil ryzost (míru intenzity čistoty) přiřazení báze. Klastry projdou filtrem (PF), když v prvních 25 cyklech maximálně jedno přiřazení báze nedosáhne pevné prahové hodnoty ryzosti. Pokud je součástí zarovnání PhiX, provede se ve 26. cyklu na podskupině dlaždic u klastrů, které vyhověly filtru. Na klastry, které filtrem neprojdou, se nepoužije přiřazení báze a nebudou zarovnány.

Skóre kvality

Skóre kvality představuje předpověď pravděpodobnosti nesprávného přiřazení báze. Vyšší skóre kvality naznačuje, že přiřazení báze má vyšší kvalitu a s větší pravděpodobností bude správné. Po stanovení skóre kvality se výsledky zaznamenají do souborů CBCL.

Skóre kvality stručnou formou informuje o pravděpodobnosti malých chyb. Skóre kvality je uváděno ve formě Q(X), kde X je příslušné skóre. Následující tabulka ukazuje vztah mezi skórem kvality a pravděpodobností chyby.

Skóre kvality Q(X)	Pravděpodobnost chyby
Q40	0,0001 (1 z 10 000)
Q30	0,001 (1 z 1 000)
Q20	0,01 (1 ze 100)
Q10	0,1 (1 z 10)

Vyhodnocování a vykazování kvality

Vyhodnocování kvality vypočítá sadu předpovědí pro jednotlivá přiřazení báze a potom hodnoty indicií použije k vyhledání skóre kvality v tabulce kvality. Tabulky kvality jsou vytvořeny tak, aby poskytovaly optimálně přesné předpovědi kvality pro běhy generované prostřednictvím specifické konfigurace platformy pro sekvenování a verze chemického složení.

Vyhodnocování kvality je založeno na upravené verzi algoritmu programu Phred.

Za účelem vytvoření tabulky kvality pro Přístroj NovaSeq 6000Dx byly určeny tři skupiny přiřazení báze založené na klastrování těchto specifických prediktivních funkcí. Po seskupení přiřazení báze byla empiricky vypočtena střední hodnota chyby pro každou ze třech skupin a příslušná skóre kvality byla zaznamenána v tabulce kvality společně s prediktivními funkcemi vztaženými k dané skupině. Z tohoto důvodu jsou v softwaru RTA3 možná pouze tři skóre kvality. Tato skóre kvality představují průměrnou hodnotu chyby skupiny. Výsledkem je zjednodušené, přesto velmi přesné vyhodnocení kvality. Tyto tři skupiny v tabulce kvality odpovídají marginálnímu (< Q15), střednímu (~Q20) a kvalitnímu (> Q30) přiřazení báze a jsou jim přiřazena konkrétní skóre kvality 12, 26 a 34. Případům bez přiřazení báze je přiřazeno "nulové" skóre 2. Tento model vykazování skóre kvality snižuje požadavky na velikost úložiště a šířku pásma, aniž by to mělo vliv na přesnost nebo výkon.

Obrázek 24 Zjednodušené vyhodnocení kvality pomocí softwaru RTA3

RTA3					
Sequence data CAGAACCTGACCCGAACCTGACC TTGGCATTCCATTGGCATTTCCA TAGCATCATGGATTAGCATCATGGAT					
Metric 1	Metric 2	Metric 3	Metric 4	Metric 5	
0	1	3	3.2	0	
862	915	0.5	0.9	0	
2125	2178	0.05	0.06	1	
3256	3309	0.05	0.07	1	



Výstupní soubory sekvenování

Typ souboru	Popis souboru, umístění a název
Soubory přiřazení báze	Každý analyzovaný klastr je zahrnut v souboru přiřazení báze, v němž jsou data agregovaná do jednoho souboru pro každý cyklus, dráhu a povrch. Agregovaný soubor obsahuje přiřazení báze a zakódované skóre kvality pro každý klastr. Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, například L001_1.cbcl
Soubory umístění klastrů	Pro každou průtokovou kyvetu existuje binární soubor umístění klastrů, který obsahuje souřadnice XY klastrů v dlaždici. Souřadnice jsou předem určeny šestihranným uspořádáním, které odpovídá uspořádání nanoprvků průtokové kyvety. Data\Intensities s_[lane].locs
Soubory filtrů	Soubor filtru vymezuje, zda klastr projde filtry. Soubory filtrů jsou vytvářeny ve 26. cyklu a využívají data z předchozích 25 cyklů. Pro každou dlaždici je vytvořen jeden soubor filtru. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane]_[tile].filter
Informační soubor běhu	Uvádí název běhu, počet cyklů v každém čtení, informaci o tom, zda je toto čtení čtením indexů, a počet záběrů a dlaždic na průtokové kyvetě. Soubor s informacemi o běhu se vytváří na začátku běhu. [Root folder], RunInfo.xml
Soubory miniatur	Miniatury pro první cyklus každého sekvenačního čtení. Thumbnail_Images\L001\C[X.1] - Soubory jsou uloženy v podsložce pro každý cyklus. s_[lane]_[tile]_[channel].jpg-Miniatura snímku obsahuje číslo dlaždice.

Struktura výstupní složky sekvenování

Software NVOS vytváří název výstupní složky automaticky.

Config (Konfigurace) – Nastavení konfigurace běhu

E Logs (Protokoly) – Soubory protokolů popisující provozní kroky, analýzu přístroje a událostiRTA3

🗉 SampleSheet.csv – Seznam vzorků nebo jiný přiložený soubor, je-li k dispozici

🚞 Data

intensities (Intenzity)

🚞 BaseCalls

LOO[X] – Soubory přiřazení báze (*.cbcl) agregované do jednoho souboru na dráhu, povrch a cyklus

- 🗏 s.locs Soubor umístění klastru pro běh
- 🗀 InterOp Binární soubory
- Recipe (Návod) Soubor s návodem specifický pro daný běh
- Thumbnail Images (Miniatury) Miniatury pro každou 10. dlaždici
- LIMS Soubor nastavení běhu (*.json), je-li to relevantní.
- 🚞 Audit

AuditInfo.xml

- RTA3.cfg
- RunInfo.xml
- RunParameters.xml
- RTAComplete.txt
- CopyComplete.txt
- E SequenceComplete.txt
- IlluminaRunManagerCopyComplete.txt
- Manifest.tsv

Údržba a odstraňování problémů

Tyto části popisují postupy údržby a odstraňování problémů pro přístroj NovaSeq 6000Dx.

Pokud máte technické otázky, navštivte stránku Přístroj NovaSeq 6000Dx na webu podpory společnosti Illumina. Na stránce podpory naleznete dokumentaci, odkazy ke stažení a přehled nejčastějších dotazů. Pokud chcete mít přístup k bulletinům podpory, přihlaste se ke svému účtu Mylllumina.

V případě problémů v oblasti kvality nebo výkonnosti běhu se obraťte na technickou podporu společnosti Illumina.

Preventivní údržba

Společnost Illumina doporučuje, abyste preventivní servisní údržbu naplánovali na každý rok. Pokud nemáte uzavřenou servisní smlouvu, obraťte se na oblastního zástupce nebo technickou podporu společnosti Illumina a objednejte si placenou službu preventivní údržby.

V2 údržbové promývání

Software vyzve k provedení údržbového promývání v následujících případech:

- Když během posledních 14 dnů neproběhlo údržbové promývání.
- Když promývání po skončení běhu selže nebo je neúplné.

Údržbové promývání proplachuje systém zředěnými roztoky Tween 20 a NaOCl, které poskytuje uživatel. Zředěné roztoky jsou čerpány z promývacích kazet do průtokové kyvety, použitých lahviček s reagenciemi a každého zásobníku kazet, aby se promyly všechny nasávací trubičky. Doba promývání je přibližně 120 minut.

Údržbové promývání vyžaduje použitou kazetu s pufrem a následující položky, které jsou dodány s přístrojem:

- Promývací kazeta SBS
- Promývací kazeta klastru
- Čtyřcestná promývací průtoková kyveta

Stejně jako kazety reagencií jsou i promývací kazety barevně odlišeny, aby se zabránilo chybám při vkládání. Promývací kazeta SBS obsahuje středovou jamku pro zředěný roztok Tween 20. Zředěný roztok NaOCl se přidává do čtyř zásobníků na promývací kazetě klastru.



UPOZORNĚNÍ

Nevyprázdnění použitých lahviček s reagenciemi může mít za následek ukončení promývání a přetečení, které poškodí přístroj a představuje bezpečnostní riziko.

Obrázek 25 Promývací kazeta SBS (vlevo) a promývací kazeta klastru V2 (vpravo)

Příprava promývacího roztoku

- 1. Do 500ml odstřeďovací lahve přidejte 400 ml vody laboratorní kvality.
- Přidejte 0,2 ml 100% roztoku Tween 20, abyste získali alespoň 400 ml 0,05% promývacího roztoku Tween 20.

Použití čerstvě připraveného roztoku Tween 20 omezuje zavedení kontaminujících látek do systému fluidik.

- 3. Promíchejte překlopením.
- 4. Sejměte víko ze středové jamky promývací kazety SBS.
- 5. Přidejte do středové jamky promývací roztok. Naplňte po rysku, která označuje minimální požadovaný objem.

Ostatní zásobníky zůstávají prázdné.

Obrázek 26 Středová jamka naplněná k rysce



6. V 50ml odstřeďovací zkumavce smíchejte následující objemy, abyste připravili 40 ml 0,12% NaOCl reagenční třídy:
- 5% NaOCI reagenční třídy (1 ml)
- Deionizovaná voda (39 ml)



UPOZORNĚNÍ

Používejte pouze NaOCI reagenční třídy. Nepoužívejte univerzální bělicí prostředky, protože mohou obsahovat sloučeniny amoniaku, což může způsobit běhy s nízkým procentem vyhovujících filtrů úspěšnosti.

- 7. Promíchejte překlopením.
- Do označených pozic promývací kazety klastru V2 přidejte 4 ml 0,12% NaOCI reagenční třídy. Místa jsou označena slovem "Fill" (Plnění) a jsou zakroužkována oranžově. Všechny ostatní zásobníky zůstávají prázdné.

Obrázek 27 Pozice pro 0,12% NaOCI



Vložení průtokové kyvety pro promývání

Odstraňte z povrchu přístroje všechny předměty.
 Během údržbového promývání udržujte povrch čistý a neopírejte se o přístroj.

- 2. V hlavní nabídce zvolte **Sequencing** (Sekvenování), dále **Wash** (Promývání) a poté zvolte stranu, která se má promývat:
 - A+B Současné promývání obou stran
 - **A** Promývá se pouze strana A.
 - **A** Promývá se pouze strana B.

Postupné zahájení údržbových promývání není podporováno. Software spustí sérii obrazovek promývání.

Údržbové promývání lze spustit pouze na jedné straně, když je druhá strana buď nečinná, nebo provádí cykly čtení SBS. Čas postupného spuštění NVOS indikuje dostupnost přístroje pro spuštění nového běhu nebo promývání. Další informace naleznete v části *Postupné zahájení běhů* na straně 54.

- 3. Výběrem tlačítka **OK** potvrďte varování a otevřete dvířka průtokové kyvety.
- 4. Vložte průtokovou kyvetu pro promývání.
- Vyberte možnost Close Flow Cell Door (Zavřít dvířka průtokové kyvety).
 Dvířka se zavřou, proběhne kontrola senzorů a RFID a na obrazovce se zobrazí ID průtokové kyvety.

Vložení promývacích kazet

Pro údržbové promývání jsou zapotřebí promývací kazety. Nepoužívejte použité SBS a klastrové kazety.

- 1. Otevřete dvířka prostoru pro kapaliny a poté otevřete dvířka chladicího prostoru pro reagencie.
- 2. Vyjměte použité SBS a kazety reagencií klastru. Nepoužitý obsah zlikvidujte v souladu s platnými normami pro váš region.

Informace o bezpečné likvidaci pozice č. 30 kazety klastru naleznete v části Pozice odpojení č. 30.

- 3. Promývací kazety vložte do zásuvky chladicí jednotky reagencií následujícím způsobem tak, aby štítky s nápisem **Insert** (Vložit) směřovaly k zadní části přístroje:
 - Kazetu SBS (šedý štítek) umístěte do levé polohy.
 - Promývací kazetu klastru V2 (oranžový štítek) umístěte do pravé polohy.
- Zasuňte zásuvku do chladicí jednotky a zavřete dvířka chladicí jednotky reagencií.
 Proběhne kontrola senzorů a pro každou kazetu se naskenuje a zobrazí na obrazovce RFID.
- 5. Otevřete zásuvku na pufr.
- 6. Pokud ještě není přítomna, vložte použitou kazetu s pufrem.

Prázdné použité lahvičky reagencií

Následující pokyny použijte k vyprázdnění použitých lahviček s reagenciemi při *každém* sekvenování. Pokud je systém nakonfigurován k externímu směrování použitých reagencií, malá lahvička shromažďuje použité reagencie a musí být vyprázdněna pro každý běh sekvenování. Velká lahvička musí být na místě.



UPOZORNĚNÍ

Tato sada reagencií obsahuje potenciálně nebezpečné chemické látky. Vdechováním, požitím, stykem s kůží a vniknutím do očí může dojít k poranění. Používejte ochranné pomůcky včetně ochranných brýlí, rukavic a laboratorního pláště, které jsou adekvátní pro možná rizika. S použitými reagenciemi nakládejte jako s chemickým odpadem a zlikvidujte je v souladu se zákony a normami platnými ve vaší zemi. Další informace týkající se ochrany životního prostředí, zdraví a bezpečnosti práce naleznete v bezpečnostních listech (SDS) na stránce support.illumina.com/sds.html.

- 7. Vyjměte a vyprázdněte malou lahvičku s použitou reagencií podle následujícího postupu.
 - a. Zvedněte páčku a vyjměte malou lahvičku s použitou reagencií z výklenku. Uchopte lahvičku za obě strany.
 - b. Sejměte závitový uzávěr z držáku na přední straně lahvičky.
 - c. Uzavřete otvor lahvičky uzávěrem, aby nedošlo k rozlití.
 - d. Obsah uchovávejte odděleně od obsahu druhé lahvičky a zlikvidujte jej v souladu s platnými normami pro váš region.
 - e. Vraťte neuzavřenou lahvičku do výklenku a poté posuňte páčku dolů. Uzávěr uložte do držáku.
- 8. Vyjměte a vyprázdněte velkou lahvičku s použitou reagencií podle následujícího postupu.
 - a. Pomocí horní rukojeti vyjměte velkou lahvičku s použitou reagencií z levé strany zásuvky pro pufr.
 - b. Sejměte závitový uzávěr z držáku na přední straně lahvičky.
 - c. Uzavřete otvor lahvičky uzávěrem, aby nedošlo k rozlití.
 - Obsah zlikvidujte v souladu s platnými normami pro váš region. Při vyprazdňování uchopte obě rukojeti.
 - e. Vraťte neuzavřenou lahvičku do zásuvky s pufrem. Uzávěr uložte do držáku.

Obrázek 28 Vrácení prázdné lahvičky



- 9. Nasaďte si nový pár nepudrovaných rukavic.
- 10. Zavřete zásuvku pufru a poté zavřete dvířka prostoru na tekutiny.



UPOZORNĚNÍ

Nevyprázdnění použitých lahviček s reagenciemi může mít za následek ukončení běhu a přetečení, které poškodí přístroj a představuje bezpečnostní riziko.

Spuštění promývání

 Zaškrtnutím políčka potvrďte, že jsou obě použité lahvičky reagencií prázdné, a poté zvolte Start Wash (Spustit promývání).

Spustí se promývání a zobrazí se odhadovaný čas dokončení promývání.



UPOZORNĚNÍ

Nevyprázdnění použitých lahviček s reagenciemi může mít za následek ukončení promývání a přetečení, které poškodí přístroj a představuje bezpečnostní riziko.

- 2. Jakmile omývání skončí, vyberte možnost Home (Domů).
- 3. Ponechte spotřební materiál na místě až do dalšího běhu.

Nasávací trubičky zůstávají v SBS a kazetách clusteru, aby se do systému nedostal vzduch. Nasávací trubičky v kazetě s pufrem jsou zvednuté, aby bylo možné vyprázdnit použité lahvičky reagencií. Před dalším udržovacím promýváním zlikvidujte zbývající promývací kapalinu v promývací kazetě a vypláchněte nádrž čistou vodou. Mezi použitím nechte kazety zcela uschnout.

Řešení problémů

Pokud máte technické otázky, navštivte stránku Přístroj NovaSeq 6000Dx na webu podpory společnosti Illumina. Na webu podpory naleznete dokumentaci, odkazy ke stažení a přehled nejčastějších dotazů. Pokud chcete mít přístup k bulletinům podpory, přihlaste se ke svému účtu Mylllumina.

V případě problémů v oblasti kvality nebo výkonnosti běhu se obraťte na technickou podporu společnosti Illumina.

Ukončení běhu

Ukončení běhu v systému NovaSeq 6000Dx je *konečné*. Software nedokáže v běhu pokračovat ani uložit data sekvenování. Spotřební materiál nelze opětovně použít.

- Vyberte End (Ukončit) a poté zvolte Yes (Ano) pro potvrzení příkazu.
 Pokud byl cyklus ukončen po 1. čtení, software zahájí automatické promývání po skončení běhu.
- 2. Budete-li o to požádáni, vyberte některou z následujících možností promývání:
 - End Run Without Wash (Ukončit běh bez promývání) Ukončí se běh a spustí se údržbové promývání.
 - End Run and Wash (Ukončit běh a provést promývání) Ukončí se běh a provede se automatické promývání po skončení běhu.
 - Cancel (Zrušit) Pokračování v aktuálním běhu.

Pokud je běh ukončen mezi dokončením klastrování a dokončením 1. čtení, software zobrazí možnosti promývání. V opačném případě software spustí automatické promývání po provedení běhu.

3. Pokud jste vybrali možnost End Run Without Wash (Ukončit běh bez promývání), postupujte podle pokynů softwaru a nastavte údržbové promývání.

Miska na úniky

Do základny přístroje je zabudována miska na úniky, která slouží ke sběru uniklých reagencií nebo chladicí kapaliny a k zachycení přetečení z použitých lahviček reagencií. Za normálních podmínek je miska na úniky suchá. Únik značí problém s přístrojem a přetečení nastává, když nejsou použité lahvičky reagencií pravidelně vyprazdňovány.

Během kontroly před spuštěním senzory detekují, zda miska na úniky obsahuje nějaké kapaliny:

- Pokud miska obsahuje kapalinu, ale není plná, může běh pokračovat, ale musíte kontaktovat technickou podporu Illumina.
- Pokud je miska na úniky plná, běh nemůže pokračovat a je nutné kontaktovat technickou podporu Illumina.



UPOZORNĚNÍ

Použité lahvičky reagencií vyprázdněte po *každém běhu*. Běhy jsou zastaveny, pokud je kterákoli z použitých lahviček reagencií plná. Přetečení kterékoli z použitých lahviček reagencií poškozuje přístroj, vyžaduje návštěvu zástupce společnosti Illumina a představuje bezpečnostní riziko.

Řešení problémů s řízením procesů

V následující tabulce jsou uvedeny možnosti řešení problémů pro ikonu N/A (Není k dispozici) na obrazovce Process Management (Řízení procesů). Umístění ikony závisí na konfiguraci běhu.

- Ikona N/A (Není k dispozici) se zobrazí ve sloupci BaseSpace Sequence Hub, když je běh nakonfigurován pro nahrání do softwaru BaseSpace Sequence Hub.
- Ikona N/A (Není k dispozici) se zobrazí ve sloupci Network (Síť), pokud je běh nakonfigurován tak, aby nahrával do výstupní složky v síti.

Stav běhu	Činnost řešení problémů
Běh	Zavřete obrazovku Process Management (Řízení procesů), počkejte přibližně 5
probíhá	minut a poté obrazovku znovu otevřete.
Běh	Vypněte a restartujte přístroj a poté znovu otevřete obrazovku Process
neprobíhá	Management (Řízení procesů).

Pokud se po dokončení řešení problémů stále zobrazuje ikona N/A (Není k dispozici), kontaktujte technickou podporu Illumina.

Chyby kontroly před spuštěním běhu

Pokud při kontrolách před provedením běhu dojde k chybě, použijte následující kroky k jeho odstranění. Pokud nastavujete běh průtokové kyvety a jedna strana selže, můžete neúspěšnou stranu zrušit a pokračovat stranou, která prošla.

Pokud kontrola před provedením běhu selže, RFID pro průtokovou kyvetu, reagencie a pufry se neuzamknou, takže spotřební materiál můžete použít pro další běh. Po zahájení běhu propíchnou nasávací trubičky těsnicí folie na kazetách reagencií a všechny RFID se uzamknou.

Kontrola systému	Důvod selhání	Doporučený postup
Senzory	Dvířka prostoru jsou otevřená, spotřební materiál není správně vložen nebo alespoň jeden senzor není funkční.	Vyberte možnost Retry (Zkusit znovu) a postupujte podle pokynů na obrazovce, čímž chybu vyřešíte.

Kontrola systému	Důvod selhání	Doporučený postup
Místo na disku	Místo na disku je nedostatečné, protože zadané umístění výstupní složky je plné.	Obrazovka Process Management (Řízení procesů) slouží k uvolnění místa na disku z určeného umístění výstupní složky.
Připojení systému	Připojení k RTA3, systému fluidik nebo jiné připojení bylo přerušeno.	Vyberte možnost Retry (Zkusit znovu) a postupujte podle pokynů na obrazovce, čímž chybu vyřešíte.
Zarovnání	Poloha průtokové kyvety brání zobrazování.	Podle pokynů na obrazovce znovu načtěte průtokovou kyvetu.

Restartování, vypnutí nebo vypnutí a zapnutí přístroje

Přístroj NovaSeq 6000Dx lze restartovat, vypnout nebo vypnout a zapnout pouze v době, kdy je nečinný. Pokud probíhá sekvenování nebo analýza, zobrazí se varování a není možné pokračovat.

- Reboot (Restartovat) Tato možnost restartuje přístroj, aniž by proběhlo úplné vypnutí.
 - Chcete-li přístroj restartovat, vyberte v nabídce Settings (Nastavení) na přístroji možnost Reboot (Restartovat).
- Shut Down (Vypnutí) Vypnutím přístroje se bezpečně zastaví veškerý software a přístroj se vypne. Barva stavového řádku se změní ze zelené na bílou, což signalizuje, že probíhá vypínání. Za normálních okolností není nutné přístroj vypínat.
 - Chcete-li přístroj vypnout, vyberte možnost Shut Down (Vypnout) v nabídce Settings (Nastavení) na přístroji nebo prostřednictvím prohlížeče.
- **Power Cycle** (Vypnutí a zapnutí)– Vypnutí a zapnutí přístroj zcela vypne a restartuje. Vypnutí a zapnutí by mělo být provedeno vždy, když dojde k chybě softwaru.
 - Chcete-li přístroj vypnout a zapnout, vyberte v nabídce Settings (Nastavení) na přístroji možnost Power Cycle (Vypnout a zapnout).

Opětovné zařazení analýzy beze změn

Pokud nejsou provedeny žádné změny nastavení běhu, vytvoří se z původního běhu nový běh a zahájí se opětovná analýza.

- Na stránce výsledků běhu vyberte možnost Requeue Analysis (Znovu zařadit analýzu).
 Otevře se okno Requeue Analysis (Znovu zařadit analýzu).
- 2. Vyberte možnost opětovného zařazení beze změn a do pole Reason (Důvod) uveďte důvod pro opětovné zařazení.
- 3. Nový běh se zobrazí na kartě Active Runs (Aktivní běhy).

Nastavení opětovného zařazení a úprav

- 1. Na stránce výsledků běhu vyberte možnost Requeue Analysis (Znovu zařadit analýzu).
- 2. V okně Requeue Analysis (Znovu zařadit analýzu) vyberte možnost úpravy nastavení běhu a opětovného zařazení analýzy. Do pole Reason (Důvod) uveďte důvod opětovného zařazení.
- 3. Upravte popis běhu a vyberte **Next** (Další).
- 4. Upravte vzorky nebo importujte nový seznam vzorků a vyberte Next (Další).
- Podle potřeby upravte nastavení analýzy a vyberte možnost Requeue (Znovu zařadit).
 Výsledky původního běhu jsou aktualizovány s odkazem na opětovně zařazený běh.

Chyba běhu před klastrováním

Pokud software neprovede běh před zahájením klastrování, můžete uložit kazety reagencií a zkumavku knihovny (včetně vzorku) pro nový cyklus. Při okamžitém opakovaném použití můžete uložit i průtokovou kyvetu. Když začne klastrování, propíchnou nasávací trubičky těsnicí folie a reagencie se přenesou do zkumavky knihovny a průtokové kyvety, takže spotřební materiál a knihovny nelze použít pro jiný běh.

Pro nastavení nového běhu pomocí kazet reagencií, zkumavky knihovny a průtokové kyvety uložené z neúspěšného běhu můžete použít jednu z následujících možností:

- Set up a new run immediately (Nastavit nový běh okamžitě) Nový běh se nastaví do 4 hodin od neúspěšného běhu. Kazety reagencií, zkumavka knihovny a průtoková kyveta zůstávají vložené.
- Set up a new run later (Nastavit nový běh později) Nový běh se nastaví do tří týdnů od neúspěšného běhu. Kazety reagencií jsou vyjmuty z přístroje a uloženy. Uložený spotřební materiál by měl být označen datem a uložen za původních podmínek. Průtokovou kyvetu nelze opětovně použít a je nutné ji zlikvidovat.

Okamžité nastavení nového běhu

- 1. Pokud běh selže a druhá strana přístroje je nečinná, přístroj restartujte. V opačném případě vyberte možnost **Home** (Domů).
- 2. Nastavte nový běh.
- 3. Ponechte aktuální průtokovou kyvetu na místě.
- Abyste software NVOS přiměli k opětovnému přečtení RFID kazety reagencií, otevřete a zavřete dvířka chladicí jednotky reagencí a zásuvku na pufr.
 Kazety, zkumavka knihovny a průtoková kyveta mohou zůstat v přístroji po neúspěšném běhu až 4 hodiny.
- 5. V případě potřeby vyprázdněte použité lahve s reagenciemi a vraťte je do přístroje.
- 6. Pokračujte v nastavení běhu.

Soubory řešení problémů

Soubor	Složka	Popis
Informační soubor běhu (RunInfo.xml)	Kořenová složka	Obsahuje následující informace o běhu: • Počet cyklů v běhu • Počet čtení v běhu • Zda je čtení indexované • Počet záběrů a dlaždic na průtokové kyvetě
Soubor s parametry běhu (RunParameters.xml)	Kořenová složka	Obsahuje název běhu a informace o parametrech běhu a jeho komponentách, včetně následujících informací RFID: sériová čísla, čísla šarží, data exspirace a katalogová čísla.
Soubory InterOp (*.bin)	InterOp	Soubory InterOp jsou aktualizovány v průběhu běhu.
Soubory protokolů	Protokoly procesů	Soubory protokolů popisují každý krok, který přístroj v každém cyklu provedl, včetně toho, která reagencie se používá, a seznam verzí softwaru a firmwaru, které byly při daném běhu použity. Soubor s názvem [InstrumentName]_CurrentHardware.csv obsahuje sériová čísla komponent přístroje.

Rejstřík

%

%PF 61

1

1. čtení 71

Α

algoritmus Phred 62 analýza v reálném čase 1, 6 aplikace 1 automatizované kontroly 72

В

barvy grafu 52 BaseSpace Sequence Hub 1 bcl2fastq2 57 běhy měření 52 metriky 57 obnovení 71 postupné 54 pozastavení 54 bez přiřazení 59-60 bezpečnostní listy 5 bílé knihy 62 bulletiny podpory 71

С

CE 57

Č

červený kanál 60

С

chladič 4

С

chladič reagencií 4

С

chlornan sodný 54, 66

С

chyby pravděpodobnost 61-62

С

chyby registrace 59

С

cíl optického zarovnání 49

С

cíl pro vyrovnání optiky 3 činnosti po spuštění 54 číslování dlaždic 58 číslování povrchů 58 čtení, počet 25

D

destička průtokové kyvety 3 diagnostika 3 dlaždice 25, 57 doba klasrování 53 doba trvání údržbové promývání 65 doba trvání běhu 52 doby trvání automatické promytí po běhu 54 generování klastru 53 sekvenační běh 52 dokování 49 dokování NovaSeq Xp 49 dokumentace 81 dráhy 25, 58 drátěné stojany 46 držák průtokové kyvety 49 držáky uzávěrů 47, 68 dvoukanálové sekvenování 60

F

fáze průtokové kyvety 49 fázování a předfázování 59 filtr ryzosti 61 filtr úspěšnosti (PF) 61 filtrování klastrů 61

Н

hodnoty intenzity 59

I

intenzity klastrů 59

Κ

kamery 1, 3, 58 kazeta s pufrem 51, 68 kazety reagencií skladování 74 kazety s reagenciemi označení 25, 27 příprava 46 klastry procházející filtrem 52 kontroly před spuštěním běhu 72 kvalita dat 61

L

likvidace formamidu 55 likvidace použitých reagencií 5 LIMS 1

Μ

miniatury 63

Ν

nanoprvky 59 NaOCI 54, 66 nápověda 71 název výstupní složky 63 nebezpečné chemikálie 5 nukleotidy 60

0

obnovení běhů 71 Obrazovka Sequencing (Sekvenování) 52 obrazy 57 oddíly 3 odkapávací miska 71 optika 3

Ρ

PhiX zarovnání 57 pipety 30 počty cyklů 53 pokyny pro vodu laboratorní jakosti 30 poloha č. 30 68 polohy nasávacích trubiček 54 pomoc 81 použité reagencie 4, 47, 50, 68 pozastavení běhů 54 pozice č. 30 55 pozice nasávacích trubiček 70 přemístění přístroje 73 přemístění přístrojů 73 přetečení 47, 68, 71 prevence 65 preventivní údržba 65 převod souborů FASTQ 57 přihrádka na pufr 51 přihrádka na tekutiny 27 připojení systému 72 problémy s fluidikou 71 promytí doba trvání 54 promývací kazety 65-66, 68 promývací roztok 27 promývání četnost 65 doba trvání 65 promývání průtokové kyvety 65 prostor na disku 72 protokoly chyb 58 průtokové kyvety 25 čištění 49 škrábance 49 specifikace 25 průtokové kyvety se čtyřmi drahami 25 průtokové kyvety se dvěma drahami 25

R

reagenční kazety vyjmutí 50 restart po vypnutí 73 režimy 25 RFID 72

Ř

řídicí software 6

R

rozmrazovací stojany 46

R

rukavice, výměna 47, 68

R

RunInfo.xml 63

S

sada softwaru 6 sekvenační cykly 53 selhání zarovnání 72 Sequencing Analysis Viewer 57, 59 skóre kvality 52, 61-62

Š

škrábance, průtokové kyvety 49

S

sledování vzorků 28

S

snímače 3,72

S

soubory CBCL 61

S

soubory filtrů 57, 63

S

soubory interOp 6

S

soubory InterOp 57, 63

S

soubory přiřazení báze 57, 63

S

soubory protokolů 58

S

specifikace 25

S

specifikace chladničky 30

S

specifikace mrazničky 30

S

spotřební materiál údržbové promývání 65 voda laboratorní jakosti 30 vyjímání 70 vyjmutí 54-55

S

stavová lišta 3, 73 štítky, komponenty soupravy 25

S

stránky podpory 71

S

světelná lišta 3,73

S

svorky, průtoková kyveta 3

S

systém fluidik 66

S

systém fluidiky 5

Т

tabulky kvality 62 technická 81 technická pomoc 81 těsnění 25, 49 Tween 20 66

U

údržba 65 údržbové promývání promývací roztoky 66 spotřební materiál 65 uložení kazet reagencií 74 umístění klastrů 57, 63 úniky 71 Universal Copy Service 6 USB porty 3

V

vlastní primery 28 vodní lázně 46 vyjmutí reagenčních kazet 50 vypnutí 73 výpočetní modul 57 výtěžek 52 vytváření šablon 59 vzorované průtokové kyvety 1, 25

W

webová stránka, podpora 71

Ζ

záběry 25, 58 zákaznická podpora 81 zelený kanál 60 zkřížená kontaminace 5, 54 zkumavky knihovny 28, 74 uložení v kazetě 74 zobrazování 25, 57-58

Technická pomoc

Pokud potřebujete technickou pomoc, obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.

Web:	www.illumina.com
E-mail:	techsupport@illumina.com

Telefonní čísla na technickou podporu společnosti Illumina

Oblast	Bezplatná linka	Mezinárodní
Austrálie	+61 1800 775 688	
Rakousko	+43 800 006249	+4319286540
Belgie	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
Kanada	+1 800 809 4566	
Čína		+86 400 066 5835
Dánsko	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
Finsko	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
Francie	+33 8 05 10 21 93	+33170770446
Německo	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
Hongkong, Čína	+852 800 960 230	
Indie	+91 8006500375	
Indonésie		0078036510048
Irsko	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
Itálie	+39 800 985513	+39 236003759
Japonsko	+81 0800 111 5011	
Malajsie	+60 1800 80 6789	
Nizozemsko	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
Nový Zéland	+64 800 451 650	
Norsko	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
Filipíny	+63 180016510798	
Singapur	1 800 5792 745	
Jižní Korea	+82 80 234 5300	
Španělsko	+34 800 300 143	+34 911 899 417

Oblast	Bezplatná linka	Mezinárodní
Švédsko	+46 2 00883979	+46 8 50619671
Švýcarsko	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
Tchaj-wan, Čína	+886 8 06651752	
Thajsko	+66 1800 011 304	
Spojené království	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197
USA	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
Vietnam	+84 1206 5263	

Bezpečnostní listy (SDS) – k dispozici na webu společnosti Illumina na adrese support.illumina.com/sds.html.

Dokumentace k produktu – k dispozici ke stažení z webu support.illumina.com.



Illumina 5200 Illumina Way San Diego, Kalifornie 92122, USA +1 800 809 ILMN (4566) +1 858 202 4566 (mimo Severní Ameriku) techsupport@illumina.com www.illumina.com



© 2022 Illumina, Inc. Všechna práva vyhrazena.



Illumina Netherlands B.V. Steenoven 19 5626 DK Eindhoven Nizozemsko

Australský sponzor

Illumina Australia Pty Ltd Nursing Association Building Level 3, 535 Elizabeth Street Melbourne, VIC 3000 Austrálie

illumina®