

Strumento NovaSeq 6000Dx

Documentazione sui prodotti

DI PROPRIETÀ DI ILLUMINA

Documento n. 200010105 v02

Agosto 2022

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

Questo documento e il suo contenuto sono di proprietà di Illumina, Inc. e delle aziende ad essa affiliate (“Illumina”) e sono destinati esclusivamente ad uso contrattuale da parte dei clienti di Illumina, per quanto concerne l'utilizzo dei prodotti qui descritti, con esclusione di qualsiasi altro scopo. Questo documento e il suo contenuto non possono essere usati o distribuiti per altri scopi e/o in altro modo diffusi, resi pubblici o riprodotti, senza previa approvazione scritta da parte di Illumina. Mediante questo documento, Illumina non trasferisce a terzi alcuna licenza ai sensi dei suoi brevetti, marchi, copyright, o diritti riconosciuti dal diritto consuetudinario, né diritti simili di alcun genere.

Al fine di assicurare un uso sicuro e corretto dei prodotti qui descritti, le istruzioni riportate in questo documento devono essere scrupolosamente ed esplicitamente seguite da personale qualificato e adeguatamente formato. Leggere e comprendere a fondo tutto il contenuto di questo documento prima di usare tali prodotti.

LA LETTURA INCOMPLETA DEL CONTENUTO DEL PRESENTE DOCUMENTO E IL MANCATO RISPETTO DI TUTTE LE ISTRUZIONI IVI CONTENUTE POSSONO CAUSARE DANNI AL/I PRODOTTO/I, LESIONI PERSONALI A UTENTI E TERZI E DANNI MATERIALI E RENDERANNO NULLA QUALSIASI GARANZIA APPLICABILE AL/I PRODOTTO/I.

ILLUMINA NON SI ASSUME ALCUNA RESPONSABILITÀ DERIVANTE DALL'USO IMPROPRIO DEL/DEI PRODOTTO/I QUI DESCRITTI (INCLUSI SOFTWARE O PARTI DI ESSO).

© 2022 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitate la pagina Web www.illumina.com/company/legal.html.

Cronologia revisioni

Documento	Data	Descrizione della modifica
Documento n. 200010105 v02	Agosto 2022	<p>Aggiunta dichiarazione sulle informazioni di sicurezza alla panoramica del sistema.</p> <p>Aggiornate Sicurezza e conformità:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aggiunte le dichiarazioni di avvertenza e conformità del laser francese per FCC, Canada, Giappone e Corea. • Consolidate EMC e Informazioni sulla sicurezza. <p>Aggiornata preparazione della sede di installazione:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aggiunte informazioni sulle spine per altri Paesi. • Rimosse le informazioni sulle spine per la Cina. <p>Aggiornati Materiali di consumo e apparecchiature:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Rimossa la legenda dei simboli per i materiali di consumo. • Aggiornati i numeri delle parti da IUO a IVD. • Aggiunta pipetta da 2 µl. • Specificata la cartuccia di lavaggio V2. • Chiarite le configurazioni dei kit di materiali di consumo. <p>Protocollo aggiornato:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Eliminati i passaggi per la preparazione di NaOH. • Rimossi i passaggi per denaturare e diluire. • Riordinati i passaggi di impostazione della corsa di sequenziamento. • Specificato che la cella a flusso viene inscatolata quando viene rimossa dallo stoccaggio. • Nelle istruzioni per la preparazione delle celle a flusso è stato indicato l'intervallo di temperatura per la temperatura ambiente. <p>Aggiornamento di Manutenzione e risoluzione dei problemi:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Chiarito che l'avvio scaglionato dei lavaggi di manutenzione non è supportato. • Rimosso il riferimento alla conservazione della provetta della libreria dalle istruzioni per la risoluzione dei problemi.

Documento	Data	Descrizione della modifica
Documento n. 200010105 v01	Aprile 2022	<p>Aggiunto Tris-Cl pH 8,5 all'elenco dei materiali di consumo forniti dall'utente.</p> <p>Specificato l'intervallo di temperatura per il bagnomaria a temperatura ambiente.</p> <p>Corretta la dimensione dell'uscita per le celle a flusso S2.</p> <p>Corretti i numeri di catalogo delle cartucce di tamponi S2 e S4 e delle provette della libreria.</p> <p>Corretto Tris-HCl, pH 7,0 in Tris-HCl, pH 8,0.</p>
Documento n. 200010105 v00	Marzo 2022	Versione iniziale.

Sommario

Cronologia revisioni	iii
Descrizione generale del sistema	1
Descrizione generale del sequenziamento	2
Componenti dello strumento	3
Software dello strumento	6
Sicurezza e conformità	7
Considerazioni e segnalazioni di sicurezza	7
Conformità del prodotto e dichiarazioni di conformità alle normative	9
Preparazione della sede di installazione	13
Requisiti di laboratorio	14
Vincoli ambientali	17
Allestimento del laboratorio per le procedure della PCR	19
Considerazioni elettriche	20
Materiali di consumo e apparecchiature	25
Materiali di consumo per il sequenziamento	25
Apparecchiature e materiali di consumo forniti dall'utente	30
Configurazione del sistema	33
Menu Settings (Impostazioni)	34
Menu principale	41
Rete e sicurezza dello strumento	43
Protocollo	48
Creare una corsa di sequenziamento	48
Preparazione dei materiali di consumo	48
Caricamento dei materiali di consumo	52
Selezionare e avviare la corsa	55
Monitoraggio del progresso della corsa	56
Avvio di corse scaglionate	58
Dopo il sequenziamento	58
Output del sequenziamento	61
Analisi in tempo reale	61
File di output per il sequenziamento	67

Manutenzione e risoluzione dei problemi	69
Manutenzione preventiva	69
V2 Lavaggio di manutenzione	69
Risoluzione dei problemi	75
Indice	81
Assistenza Tecnica	84

Descrizione generale del sistema

Lo strumento Illumina® NovaSeq 6000Dx™ offre processività scalabile e tecnologia di sequenziamento flessibile in una piattaforma su scala di produzione con l'efficienza e l'efficacia in termini di costi di un sistema da banco.

Caratteristiche

- **Scalable sequencing** (Sequenziamento scalabile): NovaSeq 6000Dx è in grado di scalare il sequenziamento fino a livello di produzione con qualità dei dati elevata per un'ampia gamma di applicazioni.
- **Patterned flow cell** (Cella a flusso preconfigurata): una cella a flusso preconfigurata genera cluster poco spazati tra di loro per elevate densità di cluster e produzione di dati.
- **Onboard ExAmp mixing** (Miscelazione di ExAmp sullo strumento): NovaSeq 6000Dx miscela i reagenti ExAmp con la libreria, amplifica la libreria ed esegue la generazione di cluster per un flusso di lavoro ottimizzato per il sequenziamento.
- **High-throughput line scanning** (Scansione lineare a elevata produttività): NovaSeq 6000Dx utilizza una videocamera dotata della tecnologia di scansione bidirezionale per sottoporre velocemente ad imaging la cella a flusso in due canali colore simultaneamente.
- **Dual mode** (Duplice modalità): NovaSeq 6000Dx include un singolo disco rigido di avvio con modalità separate per la diagnostica *in vitro* (In Vitro Diagnostic, IVD) e per il solo uso di ricerca (Research Use Only, RUO). La modalità viene selezionata tramite la levetta nelle schermate Sequencing (Sequenziamento), Runs (Corse) e Applications (Applicazioni). Una volta selezionata, la modalità è chiaramente indicata su tutte le schermate.
- **Illumina DRAGEN Server per NovaSeq 6000Dx** : DRAGEN Server incluso fornisce un'analisi dei dati accelerata dall'hardware.
- **Illumina Run Manager** : pianifica le corse, gestisce gli utenti e imposta le applicazioni di analisi sia su NovaSeq 6000Dx che fuori dallo strumento attraverso un browser web utilizzando Illumina Run Manager.

Considerazioni sulla duplice modalità

I test di sequenziamento diagnostico *in vitro* (IVD) vengono eseguiti in modalità IVD. I reagenti per il sequenziamento per IVD possono essere utilizzati solo in modalità IVD. Assicurarsi sempre che sia selezionata la modalità corretta prima di iniziare la pianificazione della corsa.

Questa risorsa descrive l'uso di Strumento NovaSeq 6000Dx in modalità IVD, a meno che non sia indicato diversamente. Per informazioni sulle caratteristiche del RUO, consultare [Guida al sistema di sequenziamento NovaSeq 6000 \(documento n. 1000000019358\)](#), inclusa l'integrazione di BaseSpace Sequence Hub.

Considerazione relative alla sicurezza

Esaminare [Sicurezza e conformità alla pagina 7](#) prima di eseguire qualsiasi procedura sul sistema.

Descrizione generale del sequenziamento

Il sequenziamento su NovaSeq 6000Dx comprende la generazione di cluster, il sequenziamento e l'identificazione delle basi. Ogni passaggio si verifica automaticamente durante una corsa di sequenziamento. L'analisi secondaria viene quindi eseguita su Illumina DRAGEN Server per NovaSeq 6000Dx al termine della corsa.

Generazione di cluster

Durante la generazione di cluster, singole molecole di DNA si legano alla superficie della cella a flusso e vengono sottoposte contemporaneamente ad amplificazione per formare i cluster.

Sequenziamento

I cluster vengono sottoposti a imaging utilizzando la chimica a due canali, un canale verde e un canale rosso, per codificare i dati per i quattro nucleotidi. La cella a flusso viene scansionata in passaggi multipli e ogni scansione viene analizzata come tile acquisite singolarmente. Il processo è ripetuto per ciascun ciclo di sequenziamento.

Analisi primaria

Durante la corsa di sequenziamento, il software Analisi in tempo reale (RTA3) esegue identificazione delle basi¹, filtraggio e punteggio qualitativo.² Durante l'avanzamento della corsa, il software di controllo trasferisce automaticamente i dati concatenati file di identificazione delle basi³ (*.cbcl) nella cartella di output specificata per l'analisi dei dati.

Analisi secondaria

Una volta completati il sequenziamento e l'analisi primaria, inizia l'analisi secondaria. Il metodo dell'analisi dei dati secondaria dipende dall'applicazione e dalla configurazione del sistema. Sono disponibili diverse opzioni di analisi secondaria per i tipi di analisi RUO e IVD. Se una corsa di sequenziamento viene creata con un'applicazione Illumina Run Manager che utilizza Illumina DRAGEN Server per NovaSeq 6000Dx per effettuare l'analisi secondaria, i dati di sequenziamento vengono inviati al server per l'analisi utilizzando l'applicazione di analisi selezionata durante l'impostazione della corsa.

¹Determina una base (A, C, G o T) per ogni cluster di una tile a un ciclo specifico.

²Predice la probabilità di un'identificazione delle basi errata. Un punteggio qualitativo elevato implica un'identificazione delle basi affidabile.

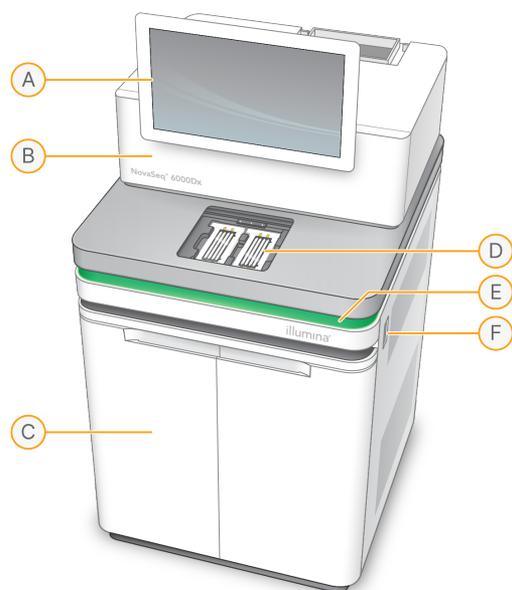
³Contiene l'identificazione delle basi e il punteggio qualitativo associato per ogni cluster di ogni ciclo di sequenziamento.

Componenti dello strumento

Strumento NovaSeq 6000Dx comprende un monitor touch screen, una barra di stato, un interruttore di alimentazione con accanto porte USB e tre scomparti.

Componenti esterni

Figura 1 Componenti esterni



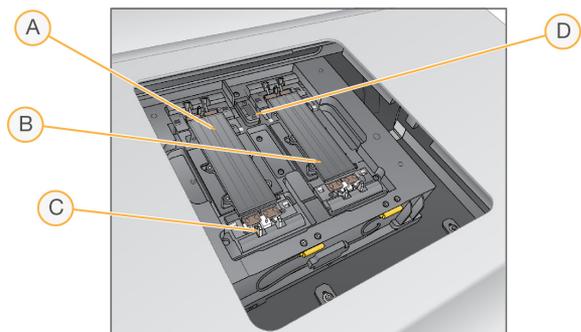
- A. **Monitor touch screen:** visualizza l'interfaccia dello strumento per la configurazione del sistema e l'impostazione della corsa.
- B. **Scomparto ottica:** contiene i componenti ottici che permettono l'imaging a doppia superficie delle celle a flusso.
- C. **Scomparto liquidi:** contiene le cartucce di reagenti e tamponi e flaconi per i reagenti usati.
- D. **Scomparto della cella a flusso:** alloggia le celle a flusso.
- E. **Barra di stato:** indica lo stato della cella a flusso come pronta per il sequenziamento (verde), in elaborazione (blu) o da controllare (arancione).
- F. **Porte di alimentazione e USB:** forniscono l'accesso al pulsante di alimentazione e alle connessioni USB per i componenti periferici.

Scomparto della cella a flusso

Lo scomparto della cella a flusso contiene il piano portacelle, che sulla sinistra alloggia la cella a flusso A e sulla destra la cella a flusso B. Ciascun lato dispone di quattro morsetti che automaticamente fermano e assicurano in posizione la cella a flusso.

Il target dell'allineamento ottico montato sul piano portacelle esegue la diagnosi e corregge eventuali problemi ottici. Quando suggerito da Software operativo NovaSeq (NVOS), il target dell'allineamento ottico riallinea il sistema e regola la messa a fuoco della videocamera per migliorare i risultati del sequenziamento.

Figura 2 Componenti degli stadi della cella a flusso



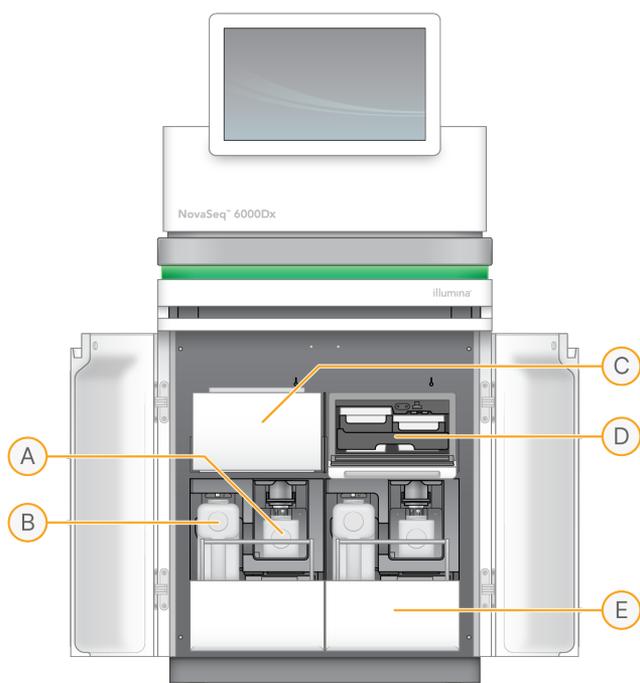
- A. Vano portacella, lato A
- B. Vano portacella, lato B
- C. Coperchio a scatto (uno di quattro per lato)
- D. Target dell'allineamento ottico

NVOS controlla l'apertura e la chiusura dello sportello dello scomparto della cella a flusso. Lo sportello si apre automaticamente per caricare una cella a flusso per una corsa o un lavaggio di manutenzione. Dopo il caricamento, il software chiude lo sportello dello scomparto, sposta la cella a flusso in posizione, innesca i morsetti e inserisce la tenuta del vuoto. I sensori verificano la presenza e la compatibilità della cella a flusso.

Scomparto dei liquidi

L'impostazione di una corsa richiede l'accesso allo scomparto dei liquidi per caricare i reagenti e i tamponi e lo svuotamento dei flaconi di reagenti usati. Due sportelli racchiudono lo scomparto dei liquidi, che è diviso in due lati corrispondenti per la cella a flusso A e la cella a flusso B.

Figura 3 Componenti dello scomparto dei liquidi



- A. **Flacone piccolo dei reagenti usati:** alloggia i reagenti usati provenienti dalla cartuccia con cluster, con un supporto per tappo per tappare facilmente il flacone per la conservazione.
- B. **Flacone grande dei reagenti usati:** alloggia i reagenti usati provenienti dalle cartucce SBS e di tamponi, con un supporto per tappo per tappare facilmente il flacone per la conservazione.
- C. **Vano refrigerato per i reagenti:** raffredda le cartucce SBS e con cluster.
- D. **Cassetto del vano refrigerato per i reagenti:** posizioni codificate a colori che contengono la cartuccia SBS sulla sinistra (etichetta grigia) e la cartuccia con cluster sulla destra (etichetta arancione).
- E. **Cassetto dei tamponi:** alloggia sulla sinistra il flacone grande dei reagenti usati e sulla destra la cartuccia di tamponi.

Reagenti usati

Il sistema di fluidica è progettato per portare i reagenti della cartuccia con cluster, potenzialmente pericolosi, al flacone piccolo dei reagenti usati. I reagenti dalle cartucce SBS e dai tamponi sono portati al flacone grande dei reagenti usati. Tuttavia, potrebbe verificarsi la contaminazione incrociata tra i flussi di reagenti. Considerare entrambi i flaconi di reagenti usati come contenenti sostanze chimiche potenzialmente pericolose. La scheda dei dati di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS) fornisce informazioni chimiche dettagliate.

Se lo strumento è stato configurato per raccogliere esternamente i reagenti usati, il flusso verso il flacone grande dei reagenti usati viene indirizzato esternamente. I reagenti della cartuccia con cluster vanno verso il flacone piccolo dei reagenti usati.

Software dello strumento

NovaSeq 6000Dx con DRAGEN Server comprende applicazioni integrate che eseguono le corse di sequenziamento, l'analisi integrata sullo strumento e sul server e altre funzioni correlate. Per ulteriori informazioni sulla configurazione del software dello strumento, consultare [Configurazione del sistema alla pagina 33](#).

- **Software operativo NovaSeq (NVOS):** guida l'utente attraverso le procedure di caricamento, controlla le operazioni dello strumento e visualizza le statistiche durante l'avanzamento della corsa. NVOS aziona lo stadio della cella a flusso, eroga i reagenti, controlla la fluidodinamica, imposta le temperature, acquisisce le immagini dei cluster sulla cella a flusso e fornisce un riepilogo visivo delle statistiche sulla qualità.
- **Analisi in tempo reale (RTA):** esegue l'analisi delle immagini e l'identificazione delle basi durante una corsa. NovaSeq 6000Dx utilizza RTA3, che incorpora miglioramenti dell'architettura, della sicurezza e di altre funzioni per ottimizzare le prestazioni.
- **Universal Copy Service (UCS):** copia i file di output da RTA3 e NVOS verso la cartella di output e al DRAGEN Server per tutta la corsa. Se Universal Copy Service viene interrotto durante una corsa, il servizio compie più tentativi di riconnessione e riprende automaticamente il trasferimento dei dati.
- **Illumina Run Manager :** pianifica le sessioni, visualizza le sessioni pianificate ed esamina i risultati della corsa sul NovaSeq 6000Dx o in remoto tramite un browser Web. Illumina Run Manager controlla anche i permessi degli utenti e delle applicazioni.
- **Illumina DRAGEN Server per NovaSeq 6000Dx :** una volta completato il sequenziamento su NovaSeq 6000Dx, inizia l'analisi su DRAGEN Server. L'analisi su DRAGEN Server e il sequenziamento sullo strumento possono essere eseguiti contemporaneamente.

Sicurezza e conformità

La presente sezione fornisce importanti informazioni di sicurezza relative all'installazione, alla manutenzione e al funzionamento di Strumento NovaSeq 6000Dx, nonché conformità del prodotto e conformità alle normative. Leggere queste informazioni prima di eseguire qualsiasi procedura sul sistema.

Il paese di origine e la data di fabbricazione del sistema sono stampate sull'etichetta dello strumento.

Considerazioni e segnalazioni di sicurezza

Questa sezione identifica potenziali pericoli associati all'installazione, alla manutenzione e al funzionamento dello strumento. Non utilizzare o interagire con lo strumento in modo da esporre l'utente a questi tipi di pericoli.



ATTENZIONE

Se si trova del liquido sul pavimento vicino allo strumento, evitare il contatto con il liquido e lo strumento e limitare immediatamente l'accesso all'area. Interrompere l'alimentazione dello strumento utilizzando l'interruttore di alimentazione. Contattare immediatamente l'assistenza tecnica Illumina.

Avvisi di sicurezza generali



Attenersi a tutte le istruzioni di funzionamento quando si lavora in aree contrassegnate con questa etichetta per ridurre al minimo rischi al personale o allo strumento.

Avvertenze per la sicurezza delle celle a flusso



ATTENZIONE

Fare attenzione a tenere le dita fuori dallo sportello della cella a flusso per evitare lesioni.

Avvisi di sicurezza su oggetti pesanti



Lo strumento pesa circa 447 kg quando inviato e circa 576 kg quando installato, ed eventuali cadute o errata manipolazione possono causare lesioni gravi.

Avviso di sicurezza sulle superfici calde



Non utilizzare lo strumento se un qualsiasi pannello è rimosso.

Non toccare la stazione termica nello scomparto della cella a flusso. Il riscaldatore utilizzato in quest'area è normalmente regolato tra la temperatura ambiente (22°C) e 60°C. L'esposizione a temperature superiori a questo intervallo può provocare ustioni.

Avviso di sicurezza per il laser



Strumento NovaSeq 6000Dx è un prodotto laser di Classe 1 che contiene due laser di Classe 4, un laser di Classe 3B e un laser di Classe 3R.

I laser di Classe 4 presentano un pericolo per gli occhi a causa dei riflessi dei fasci di luce diretti e diffusi. Evitare l'esposizione diretta o riflessa alle radiazioni dei laser di Classe 4 su occhi o pelle. I laser di Classe 4 possono causare la combustione di materiale infiammabile e provocare bruciature e lesioni serie alla cute causate dall'esposizione diretta.

I laser di classe 3B presentano un rischio per gli occhi. Possono riscaldare la pelle e i materiali, ma non rappresentano un rischio di ustione.

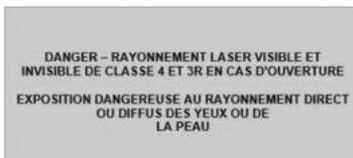
I laser di classe 3R presentano un rischio per gli occhi dovuto all'esposizione diretta al raggio laser.

Non utilizzare lo strumento se un qualsiasi pannello è rimosso. Quando lo sportello della cella a flusso è aperto, gli interruttori di sicurezza bloccano il raggio laser. Se lo strumento viene utilizzato con un qualsiasi pannello rimosso, si rischia l'esposizione diretta o riflessa alla luce del laser.

Figura 4 Avviso laser di Classe 4 e Classe 3R (inglese)



Figura 5 Avviso laser di Classe 4 e Classe 3R (francese)



Messa a terra protettiva



Lo strumento è collegato alla messa a terra protettiva attraverso il telaio. Il conduttore di protezione del cavo di alimentazione riporta il limite della messa a terra protettiva a un valore di riferimento sicuro. Quando si utilizza questo dispositivo, il conduttore di messa a terra protettiva del cavo di alimentazione deve essere in buono stato di funzionamento.

Conformità del prodotto e dichiarazioni di conformità alle normative

Considerazioni relative alla compatibilità EMC

Valutare l'ambiente elettromagnetico prima di utilizzare il dispositivo. Questa apparecchiatura è stata progettata e testata in base allo standard CISPR 11 Classe A. In un ambiente domestico, potrebbe causare interferenze radio. Nel caso si verificassero interferenze radio, potrebbe essere necessario mitigarle.

L'apparecchiatura IVD è conforme ai requisiti per le emissioni e l'immunità descritti in IEC 61326-2-6. Questa attrezzatura è progettata per l'uso in strutture sanitarie professionali. Se utilizzata in un ambiente sanitario domestico, è probabile che non funzioni correttamente. Se si sospetta che le prestazioni siano influenzate da interferenze elettromagnetiche, il corretto funzionamento può essere ripristinato aumentando la distanza tra l'apparecchiatura e la fonte dell'interferenza. Non è destinata all'uso in ambienti residenziali e potrebbe non fornire una protezione adeguata alla ricezione radio in tali ambienti. Valutare l'ambiente elettromagnetico prima di utilizzare il dispositivo.

Non utilizzare il dispositivo in vicinanza di forti fonti di radiazioni elettromagnetiche, in quanto queste possono interferire con il corretto funzionamento.

L'ambiente di utilizzo previsto per NovaSeq 6000Dx è limitato agli ambienti di laboratorio delle strutture sanitarie professionali. Lo strumento non deve essere utilizzato in alcuno dei seguenti ambienti: studi medici; unità di terapia intensiva; pronto soccorso o centri ambulatoriali; sale chirurgiche o operatorie; cliniche sanitarie; stanze dei pazienti; studi dentistici; strutture ad assistenza limitata; case di cura; farmacie o drogherie; sale di pronto soccorso; o in prossimità di fonti elevate di radiazioni elettromagnetiche (ad esempio, risonanza magnetica). In base all'ambiente di utilizzo previsto definito sopra, NovaSeq 6000Dx è considerato un AMBIENTE ELETTROMAGNETICO CONTROLLATO con sorgenti elettromagnetiche fisse e qualsiasi malfunzionamento di NovaSeq 6000Dx non causerà direttamente danni, lesioni gravi o decesso di un paziente quando NovaSeq 6000Dx viene utilizzato come previsto. Le sorgenti elettromagnetiche che potrebbero essere utilizzate nelle vicinanze di NovaSeq 6000Dx includono le seguenti:

- Sistemi di identificazione a radiofrequenza (Radio Frequency Identification, RFID)
- Reti locali senza fili (Wireless Local Area Networks, WLAN)

- Radio mobili portatili (es. TETRA, ricetrasmittenti)
- Sistemi di paging
- Altri dispositivi wireless (compresi i dispositivi per uso privato)

Esposizione umana alle radiofrequenze

Questa apparecchiatura è conforme ai limiti massimi di esposizione permessa (MPE) per la popolazione generale in base alla norma 47 CFR paragrafo 1.1310 Tabella 1.

Questa apparecchiatura è conforme al limite di esposizione umana ai campi elettromagnetici (EMF) per i dispositivi che operano nell'intervallo di frequenza da 0 Hz a 10 GHz, usati nell'identificazione a radiofrequenza (RFID) in ambiente occupazionale o professionale. (EN 50364:2010 sezione 4.0.)

Per informazioni sulla conformità alla RFID, consultare [Guida alla conformità del modulo del lettore RFID \(documento n. 1000000002699\)](#).

Dichiarazione di conformità semplificata

Illumina, Inc. dichiara che Strumento NovaSeq 6000Dx è conforme alle seguenti direttive:

- Direttiva EMC [2014/30/EU]
- Direttiva [2014/35/EU] relativa alla bassa tensione
- Direttiva RED [2014/53/EU]

Illumina, Inc. dichiara che Compute Server è conforme alle seguenti direttive:

- Direttiva RoHS [2011/65/EU] come modificata da UE 2015/863

Il testo completo della dichiarazione di conformità per l'Unione Europea è disponibile al seguente indirizzo Web: support.illumina.com/certificates.html.

Regolamento sui rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (RAEE)



Questa etichetta indica che lo strumento è conforme alla direttiva RAEE per i rifiuti.

Visitare la pagina support.illumina.com/certificates.html per ottenere linee guida sul riciclo dell'apparecchiatura.

Conformità FCC

Questo dispositivo è conforme alla Parte 15 delle normative FCC. Il suo utilizzo è soggetto alle due condizioni seguenti:

1. Questo dispositivo non deve causare interferenze dannose.
2. Questo dispositivo può subire interferenze, comprese interferenze che possono causare problemi di funzionamento.



ATTENZIONE

Cambiamenti o modifiche apportate a questa unità non espressamente approvate dalla parte responsabile per la conformità possono determinare la revoca dell'autorizzazione all'uso dell'apparecchiatura da parte dell'utente.

NOTA Questa apparecchiatura è stata collaudata ed è risultata conforme ai limiti per i dispositivi digitali di Classe A, ai sensi della Parte 15 delle normative FCC. Tali limiti sono stati concepiti per fornire una ragionevole protezione contro le interferenze dannose in caso di installazioni dell'apparecchiatura in ambiente commerciale. Questa apparecchiatura genera, impiega e può irradiare onde radio e, se non installata e usata in base alle istruzioni del manuale dello strumento, può causare interferenze dannose alle comunicazioni radio. Il funzionamento di questa apparecchiatura in un'area residenziale può causare interferenze dannose. In questo caso gli utenti devono correggere l'interferenza a proprie spese.

Cavi schermati

Questa unità richiede l'utilizzo di cavi schermati per assicurare la conformità ai limiti FCC di Classe A.

Conformità IC

Questo apparecchio digitale di Classe A è conforme ai requisiti previsti dalle norme canadesi relative alle apparecchiature che causano interferenze (Canadian Interference-Causing Equipment Regulations).

Questo dispositivo è conforme agli standard RSS esenti da licenza di Industry Canada (IC). Il suo utilizzo è soggetto alle due condizioni seguenti:

1. Questo dispositivo non deve causare interferenze.
2. Questo dispositivo può subire interferenze, comprese interferenze che possono causare problemi di funzionamento.

Conformità per il Giappone

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

Conformità per la Corea

해당 무선설비는 운용중 전파혼신 가능성이 있음.
A급 기기(업무용 방송통신기자재)

이 기기는 업무용 (A급)으로 전자파 적합로서 판매자 또는 사용자는 이 점을 주의하시기바라며, 가정외의 지역에서 사용하는 것을 목적으로 합니다.

Conformità per gli Emirati Arabi Uniti

- Numero TRA registrato: ER0117765/13
- Numero del rivenditore: DA0075306/11

Conformità per la Thailandia

Questa apparecchiature per telecomunicazioni è conforme ai requisiti della National Telecommunications Commission.

Preparazione della sede di installazione

Questa sezione fornisce le specifiche e le linee guida per la preparazione del sito per l'installazione e il funzionamento di Strumento NovaSeq 6000Dx.

Consegna e installazione

Un rappresentante Illumina consegna il sistema, disimballa i componenti e posiziona lo strumento. Assicurarsi che lo spazio nel laboratorio sia pronto prima della consegna.

I rischi di carico sul pavimento legati all'installazione dello strumento devono essere valutati e affrontati dal personale della struttura dell'edificio.



ATTENZIONE

Lo strumento può essere disimballato, installato o spostato unicamente da personale debitamente autorizzato. Una manipolazione non appropriata dello strumento può incidere sull'allineamento o danneggiarne i componenti.

Un rappresentante Illumina installerà e preparerà lo strumento. Quando si collega lo strumento a un sistema di gestione dei dati o a una destinazione remota in rete, assicurarsi di definire il percorso per l'archiviazione dei dati prima della data dell'installazione. Il rappresentante Illumina può testare il processo del trasferimento dati durante l'installazione.



ATTENZIONE

Non spostare lo strumento dopo l'installazione e la preparazione dello strumento da parte del rappresentante Illumina. Uno spostamento dello strumento non eseguito nel modo appropriato può incidere sull'allineamento ottico e compromettere l'integrità dei dati. Se è necessario riposizionare lo strumento, rivolgersi al rappresentante Illumina.

Consegna di DRAGEN Server

Consultare la [Documentazione del prodotto Illumina DRAGEN Server per NovaSeq 6000Dx](#) sul sito di supporto Illumina per informazioni sulla consegna e l'installazione di DRAGEN Server.

Dimensioni e contenuto della cassa di spedizione

NovaSeq 6000Dx e i componenti vengono spediti in una cassa di legno (Contenitore di spedizione n. 1) e in una scatola di cartone (Contenitore di spedizione n. 2). Utilizzare le dimensioni riportate di seguito per determinare la larghezza minima richiesta della porta per fare entrare le casse di spedizione.

Misura	Contenitore di spedizione n. 1	Contenitore di spedizione n. 2
Altezza	155 cm	84 cm

Misura	Contenitore di spedizione n. 1	Contenitore di spedizione n. 2
Larghezza	104 cm	122 cm
Profondità	155 cm	102 cm
Peso del contenitore	628 kg	176 kg

Per il Contenitore n. 1, i punti di accesso per i carrelli elevatori si trovano sul lato del fondo del contenitore. Tenere presente questo aspetto per quanto riguarda la distanza dalle porte e dagli ascensori quando si trasporta lo strumento nel contenitore.

Il peso dell'UPS e del pacco batterie esterno per l'UPS contenuto nel Contenitore n. 2 può variare in base al modello spedito.

- Il Contenitore n. 1 contiene lo strumento.
- Il Contenitore n. 2 contiene cinque scatole con il seguente contenuto:
 - Scatola: Gruppo di continuità (UPS), peso 46 kg
 - Scatola: Batteria esterna per l'UPS, peso 64 kg
 - Scatola: Accessori, peso totale 31 kg
 - Monitor
 - Flacone grande per reagenti usati e flacone piccolo per reagenti usati
 - Vassoio delle perdite dello strumento
 - Rastrelliere di scongelamento in filo metallico (4)
 - Celle a flusso per il lavaggio (2)
 - Cartucce per il lavaggio SBS (2)
 - Cartucce con cluster V2 per il lavaggio (2)
 - Tastiera e mouse wireless, se adatti alla regione. In assenza di una tastiera wireless, utilizzare una tastiera con cavetto.
 - Scatola: Componenti aggiuntivi
 - Due flaconi in vaschetta per tamponi confezionati singolarmente
 - Cavo di alimentazione specifico per la regione
 - *Scheda doc Strumento IVD (documento n. 200016882)*
 - Scatola: Adattatore camino

Requisiti di laboratorio

Utilizzare le specifiche e i requisiti forniti in questa sezione per impostare lo spazio del laboratorio.

Collocazione dello strumento

Figura 6 Dimensioni dello strumento

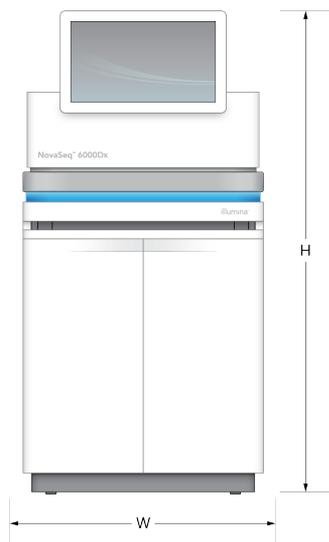


Tabella 1 Dimensioni dello strumento

Misura	Dimensioni dello strumento*
Altezza	165,6 cm
Larghezza	80,0 cm
Profondità	94,5 cm
Peso	481 kg

* Il sistema UPS non è incluso in queste dimensioni; è necessario allocare uno spazio aggiuntivo.

Posizionare lo strumento in modo da consentire una ventilazione adeguata, l'accesso per la manutenzione dello strumento e l'accesso all'interruttore di alimentazione, alla presa di corrente e al cavo di alimentazione.

- Posizionare lo strumento in modo che il personale possa raggiungere il lato destro dello strumento per accendere o spegnere l'interruttore di alimentazione. Questo interruttore si trova sul pannello posteriore, accanto al cavo di alimentazione.
- Posizionare lo strumento in modo da poter staccare rapidamente il cavo di alimentazione dalla presa.
- Assicurarsi che lo strumento sia accessibile da tutti i lati utilizzando le seguenti dimensioni minime di spazio libero.
- Posizionare l'UPS su entrambi i lati dello strumento. L'UPS può essere collocato entro la distanza minima dai lati dello strumento.

Tabella 2 Spazio attorno allo strumento

Accesso	Spazio libero minimo
Lato anteriore	Lasciare almeno 152,4 cm davanti al lato anteriore dello strumento per l'apertura dello scomparto dei liquidi e per garantire l'accesso generale al laboratorio per lo spostamento del personale.
Lati	Lasciare almeno 76,2 cm su ciascun lato dello strumento per consentire l'accesso e lo spazio intorno allo strumento. Gli strumenti affiancati richiedono solo 76,2 cm in totale tra i due strumenti.
Parte posteriore	Lasciare almeno 30,5 cm dietro lo strumento posizionato vicino a una parete per consentire la ventilazione e l'accesso. Lasciare almeno 61 cm tra due strumenti posizionati uno dietro l'altro.
Parte superiore	Assicurarsi che scaffali e altri ostacoli non si trovino sopra lo strumento.



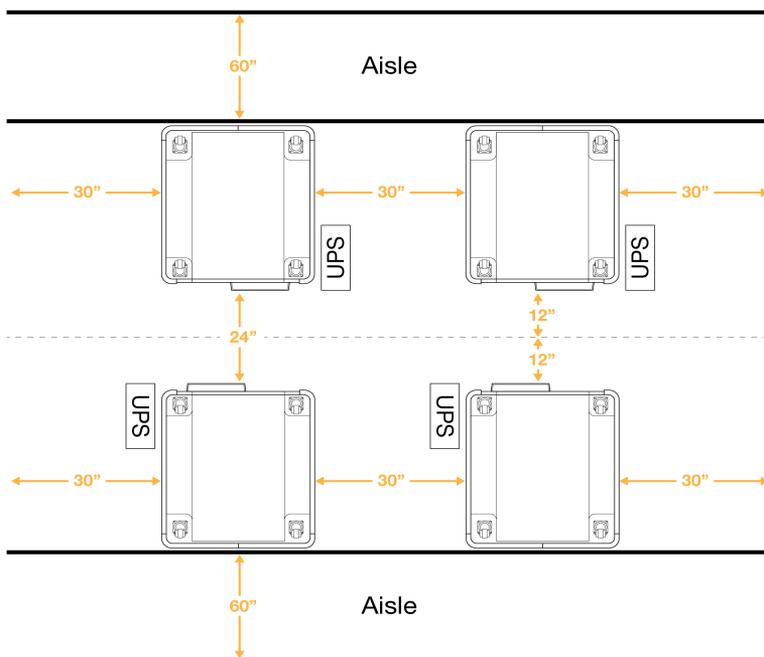
ATTENZIONE

Un posizionamento errato può ridurre la ventilazione. Una ventilazione ridotta aumenta la produzione di calore e di rumore, compromettendo l'integrità dei dati e la sicurezza del personale.

Disposizione dell'installazione multisistema

Il diagramma mostra un esempio di disposizione per un'installazione multisistema, compresi i requisiti di distanza minima.

Figura 7 Disposizione dell'installazione multisistema



Vincoli ambientali

Tabella 3 Specifiche ambientali dello strumento

Elemento	Specifica
Qualità dell'aria	Utilizzare lo strumento in un ambiente con Grado di inquinamento II o migliore. La definizione Grado di inquinamento II si applica a un ambiente che presenta solo sostanze inquinanti non conduttive.
Elevazione	Installare lo strumento a un'altitudine inferiore a 2.000 metri.
Umidità	Trasporto e stoccaggio: Umidità non condensante compresa tra 15-80%. Condizioni di funzionamento: Mantenere l'umidità relativa, senza condensa, nell'intervallo 20-80%.
Ubicazione	Utilizzare lo strumento solo in ambienti interni.
Temperatura	Trasporto e stoccaggio: Da -10°C a 50°C Condizioni di funzionamento: Mantenere nel laboratorio una temperatura compresa tra 19 °C e 25 °C (22 °C ± 3 °C). Questa è la temperatura operativa dello strumento. Durante una corsa, evitare che la temperatura ambiente subisca sbalzi superiori a ± 2 °C.
Ventilazione	Rivolgersi al dipartimento preposto per i requisiti di ventilazione in base alle specifiche di dissipazione termica dello strumento.

Elemento	Specifica
Vibrazione	Limitare le vibrazioni continue del pavimento del laboratorio in base al livello ISO di un ufficio. Durante una corsa di sequenziamento, non superare i limiti ISO di una sala operatoria. Evitare shock intermittenti o interferenze accanto allo strumento.

Tabella 4 Dissipazione termica

Picco potenza assorbita	Calore emesso
2.500 Watt	Massimo 8.530 BTU/ora Media 6.000 BTU/ora

Tabella 5 Emissioni acustiche

Emissioni acustiche	Distanza dallo strumento
< 75 dB	1 metro

Manipolazione dei reagenti usati sfusi

NovaSeq 6000Dx è in grado di dispensare il tampone dei reagenti usati in un contenitore per materiali sfusi fornito dal cliente per il trattamento o la manipolazione separata. I tubi per reagenti usati esterni in dotazione nel kit di accessori sono lunghi 5 metri e si collegano alla parte posteriore sinistra dello strumento.

Illumina supporta solo la raccolta esterna di reagenti usati con i tubi in dotazione. Ogni tubo contiene gli scarti dei tamponi provenienti da una singola posizione della cella a flusso e deve essere convogliato singolarmente nel contenitore per il materiale sfuso.

Il contenitore deve essere collocato entro 5 metri dallo strumento. L'apertura deve trovarsi a un'altezza massima di 1.000 mm dal pavimento.

Sfiato

Un camino verticale rotondo da 25 cm espelle il 60% del calore prodotto dallo strumento. È possibile sfiatare nella stanza o collegare il camino a un condotto fornito dall'utente.

Per i condotti di sfiato, attenersi alle seguenti indicazioni.

- È preferibile un condotto flessibile.
- Se possibile, evitare di piegare i condotti flessibili. Ridurre al minimo le curvature dei condotti flessibili.
- I condotti flessibili con curvature devono mantenere il diametro di 25 cm del camino in tutti i punti.
- Eliminare gli schiacciamenti o altre limitazioni al flusso d'aria.
- È possibile utilizzare condotti rigidi. L'uso di condotti rigidi può richiedere lo spostamento dello strumento da parte del personale Illumina per la manutenzione.
- Utilizzare la lunghezza più breve possibile dei condotti.
- Collocare in uno spazio con una ventilazione sufficiente per evitare che il flusso d'aria venga limitato o che si crei un reflusso all'interno dello strumento.

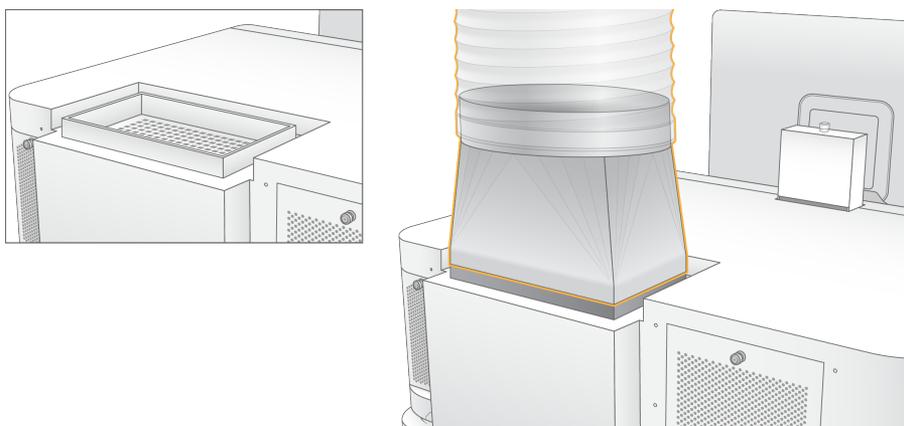


ATTENZIONE

L'inosservanza di queste linee guida può influire sulle prestazioni dello strumento e causare guasti di funzionamento.

Il flusso d'aria del camino è di 450 CFM. La temperatura dell'aria del camino è fino a 12°C superiore alla temperatura ambiente.

Figura 8 Posizionamento del camino per lo sfiato



Allestimento del laboratorio per le procedure della PCR

Alcuni metodi di preparazione delle librerie richiedono il processo di reazione di polimerizzazione a catena (Polymerase Chain Reaction, PCR). Per impedire la contaminazione da PCR, è necessario creare spazi dedicati e procedure di laboratorio prima di iniziare a lavorare nel laboratorio. I prodotti della PCR

possono contaminare i reagenti, gli strumenti e i campioni, ritardando il normale funzionamento e fornendo risultati inaccurati.

Utilizzare le seguenti linee guida per evitare la contaminazione incrociata.

- Creare un'area pre-PCR per i processi di pre-PCR.
- Creare un'area post-PCR per elaborare i prodotti per la PCR.
- Non utilizzare lo stesso lavandino per lavare i materiali di pre-PCR e post-PCR.
- Non utilizzare lo stesso sistema di purificazione dell'acqua per i processi di pre-PCR e post-PCR.
- Conservare i prodotti usati per i protocolli pre-PCR nell'area pre-PCR. Trasferirli nell'area post-PCR in base alle necessità.
- Non utilizzare le stesse apparecchiature e gli stessi materiali per i processi di pre-PCR e post-PCR. Dedicare un set di apparecchiature e materiali separati in ciascuna area.
- Creare spazi di conservazione dedicati per i materiali di consumo utilizzati in ciascuna area.

Considerazioni elettriche

Tabella 6 Specifiche di alimentazione

Tipo	Specifica
Tensione di rete	200–240 V c.a. a 50/60 Hz
Picco potenza assorbita	2.500 Watt

Per alimentazione a 200-240 Volt c.a, l'impianto deve essere cablato con una linea di terra da almeno 15 ampere con tensione adeguata. È richiesta una messa a terra. Se si riscontrano fluttuazioni di tensione superiori al 10%, è necessario installare un regolatore di tensione.

Lo strumento deve essere collegato a un circuito dedicato che non deve essere condiviso con altre apparecchiature.

Fusibili

Lo strumento non contiene fusibili sostituibili dall'utente.

Cavi di alimentazione

Lo strumento è dotato di un connettore con standard internazionale IEC 60320 C20 ed è fornito di un cavo di alimentazione specifico per il Paese. Per acquistare prese o cavi di alimentazione equivalenti conformi alle normative locali, rivolgersi a un fornitore di terze parti come Interpower Corporation (www.interpower.com). Tutti i cavi di alimentazione sono lunghi 2,5 m.

I livelli di tensione pericolosi vengono eliminati dallo strumento solo quando il cavo di alimentazione è scollegato dalla fonte di alimentazione c.a..

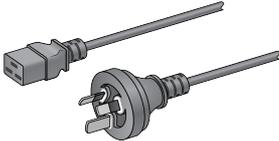
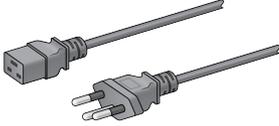
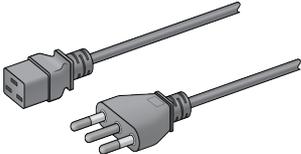
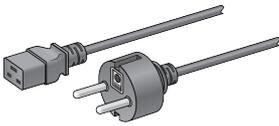
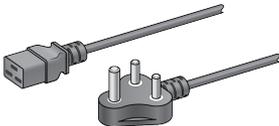


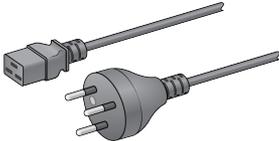
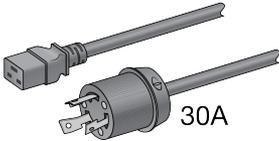
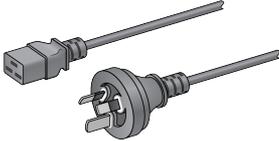
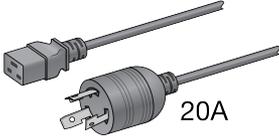
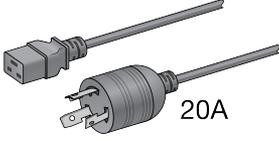
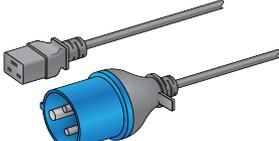
ATTENZIONE

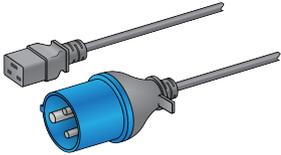
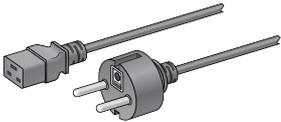
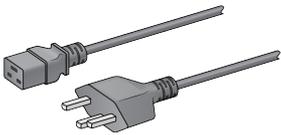
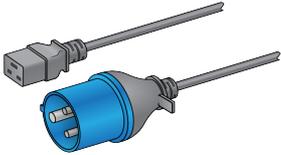
Non utilizzare mai una prolunga per collegare lo strumento alla presa di alimentazione.

La tabella seguente elenca gli alimentatori supportati per la regione di appartenenza. In alternativa, tutte le regioni possono utilizzare IEC 60309.

Tabella 7 Requisiti dei cavi di alimentazione delle regioni selezionate

Area geografica	Cavo di alimentazione spedito	Alimentazione elettrica	Presa
Australia	SAA AS 3112 da maschio a C19, 15 Amp 	230 V c.a, 15 Amp	15 Amp Tipo I
Brasile	Spina NBR14136 a C19, 16 Amp 	220 V c.a, 16 Amp	NBR 14136 Tipo N
Cile	CEI 23-16 a C19, 16 Amp 	220 V c.a, 16 Amp	CEI 23-16/VII, Tipo L
Unione Europea ¹ Serbia Ucraina	Schuko CEE 7 (EU1-16p) a C19, 16 Amp 	220-240 V c.a, 16 Amp	Schuko CEE 7/3
India	IS1293 a C19, 16 Amp 	230 V c.a, 16 Amp	BS546A Tipo M

Area geografica	Cavo di alimentazione spedito	Alimentazione elettrica	Presca
Israele	IEC 60320 C19, 16 Amp 	230 V c.a, 16 Amp	SI 3216 Amp Tipo H
Giappone	NEMA L6-30P, 30 Amp 	200 V c.a, 30 Amp	NEMA L6-30R
Nuova Zelanda	SAA AS 3112 da maschio a C19, 15 Amp 	230 V c.a, 15 Amp	15 Amp Dedicata Tipo I
Nord America Colombia	NEMA L6-20P a C19, 20 Amp 	208 V, 16 Amp	NEMA L6-20R
Perù Filippine	NEMA L6-20P a C19, 20 Amp 	220 V c.a, 16 Amp	NEMA L6-20R
Arabia Saudita	IEC60309 316P6 a C19, 16 Amp 	220 V c.a, 16 Amp	IEC60309 316C6

Area geografica	Cavo di alimentazione spedito	Alimentazione elettrica	Presca
Singapore	IEC60309 316P6 a C19, 16 Amp 	230–250 V c.a, 16 Amp	IEC60309 316C6
Corea del Sud Thailandia	Schuko CEE 7 (EU1-16p) a C19, 16 Amp 	220 V c.a, 16 Amp	Schuko CEE 7/3
Svizzera	SEV 1011 Spina J Tipo 23, 16 Amp 	230 V c.a, 16 Amp	SEV 1011 Presca J Tipo 23
Regno Unito	IEC60309 316P6 a C19, 16 Amp 	230–250 V c.a, 16 Amp	IEC60309 316C6

¹ Ad eccezione della Svizzera e del Regno Unito.

Gruppo di continuità (UPS)

Le seguenti specifiche si riferiscono all'UPS mondiale fornito con lo strumento.

Per i Paesi che richiedono un modello diverso di UPS e di batteria e per le alternative, consultare la sezione [Gruppo di continuità specifico per ogni Paese alla pagina 24](#).

- **UPS**—APC Smart-UPS X 3000 Rack/Tower LCD 200-240V, Modello n. SMX3000RMHV2U

Specificca	UPS
Potenza massima in uscita	2.700 Watt*/ 3.000 VA
Tensione in ingresso (nominale)	200–240 V c.a.

Specifica	UPS
Frequenza di ingresso	50/60 Hz
Connessione in ingresso	IEC-60320 C20
Peso	95 kg
Dimensioni (Formato torre: A x L x P)	43,2 cm x 66,7 cm x 17 cm

* L'UPS richiede un massimo di 330 Watt per caricare le batterie ed eseguire altre funzioni interne. In questo periodo sono disponibili 2.700 Watt per la produzione.

Gruppo di continuità specifico per ogni Paese

Illumina fornisce i seguenti UPS specifici per ogni Paese.

Paese	Modello UPS n.
Columbia	SRT3000RMLW-IEC
India	SUA3000UXI
Giappone	SRT5KXLJ
Messico	SRT3000RMLW-IEC
Corea del Sud	SRT3000RMLW-IEC
Thailandia	SRT3000RMLW-IEC

Per ulteriori informazioni sulle specifiche, consultare il sito web di APC (www.apc.com).

NOTA Le opzioni esatte di UPS e batterie sono soggette a disponibilità e possono cambiare senza preavviso.

Materiali di consumo e apparecchiature

Questa sezione elenca tutto ciò che è necessario per una corsa di sequenziamento di NovaSeq 6000Dx. Sono compresi i materiali di consumo forniti di Illumina e i materiali di consumo e le apparecchiature accessorie che devono essere acquistati da altri fornitori. Questi elementi sono necessari per completare il protocollo e per eseguire le procedure di manutenzione e risoluzione dei problemi.

Per informazioni sui simboli presenti sui materiali di consumo o sulle confezioni dei materiali di consumo, consultare [Legenda dei simboli IVD Illumina \(documento n. 1000000039141\)](#).

Materiali di consumo per il sequenziamento

Una corsa di NovaSeq 6000Dx richiede i seguenti componenti:

- Cartuccia di tamponi
- Cartuccia con cluster
- Cella a flusso
- Provetta della libreria
- Cartuccia SBS

I materiali di consumo di NovaSeq 6000Dx sono confezionati nelle seguenti configurazioni. Ciascun componente utilizza l'identificazione a radio frequenza (Radio-Frequency IDentification, RFID) per garantire il monitoraggio accurato e la compatibilità dei materiali di consumo.

Tabella 8 Materiali di consumo forniti da Illumina

Nome del kit	Sommario	Numero di catalogo Illumina
Kit reagenti NovaSeq 6000Dx S2 v1.5 (300 cicli)	Cartuccia con cluster S2 Cella a flusso S2 Cartuccia SBS S2	20046931
Kit Reagenti NovaSeq 6000Dx S4 v1.5 (300 cicli)	Cartuccia con cluster S4 Cella a flusso S4 Cartuccia SBS S4	20046933
Cartuccia di tamponi S2 NovaSeq 6000Dx	Cartuccia di tamponi S2	20062292
Cartuccia di tamponi S4 NovaSeq 6000Dx	Cartuccia di tamponi S4	20062293
Provetta della libreria NovaSeq 6000Dx	Provetta della libreria singola	20062290
Provetta della libreria NovaSeq 6000Dx, confezione da 24	24 provette della libreria	20062291

Non appena si ricevono i materiali di consumo, per assicurare un funzionamento corretto provvedere subito a conservare i componenti del kit alla temperatura indicata.

Tabella 9 Conservazione dei kit NovaSeq 6000Dx

Materiale di consumo	Quantità	Temperatura di conservazione	Lunghezza	Larghezza	Altezza
Cella a flusso	1	Tra 2 °C e 8 °C	27,7 cm	17 cm	3,8 cm
Cartuccia con cluster	1	Tra -25 °C e -15 °C	29,5 cm	13 cm	9,4 cm
Cartuccia SBS	1	Tra -25 °C e -15 °C	30 cm	12,4 cm	11,2 cm
Cartuccia di tamponi	1	Tra 15 °C e 30 °C	42,2 cm	20,6 cm	21,1 cm
Provetta della libreria	1	Tra 15 °C e 30 °C	4,1 cm	2,3 cm	12,4

Dettagli sui materiali di consumo

Per identificare i componenti del kit compatibili, le celle a flusso e le cartucce sono etichettate con simboli che indicano la modalità del kit.

Tabella 10 Etichettatura per la compatibilità

Modalità del kit	Marchio sull'etichetta	Descrizione
Componenti del kit S2		La cella a flusso S2 genera fino a 4,1 miliardi di letture unidirezionali che passano il filtro con un output fino a 1.000 Gb a 2 x 150 bp. La cella a flusso S2 fornisce il sequenziamento rapido per la maggior parte delle applicazioni ad elevata produttività.
Componenti del kit S4		La cella a flusso S4 genera fino a 10 miliardi di letture unidirezionali che passano il filtro con un output fino a 3.000 Gb a 2 x 150 bp. La cella a flusso S4 è una versione a quattro corsie della cella a flusso, progettata per il massimo output.

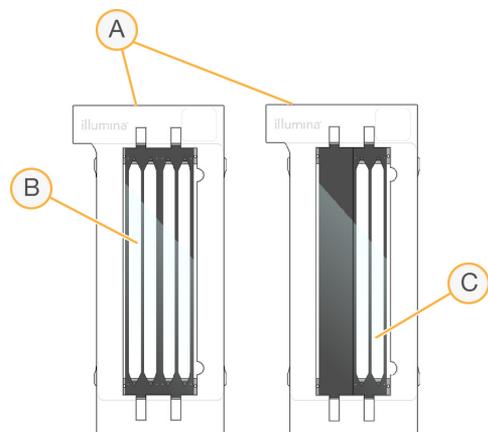
Cella a flusso

La cella a flusso NovaSeq 6000Dx è una cella a flusso preconfigurata inserita in una cartuccia. La cella a flusso è un substrato in vetro che contiene miliardi di nanopozzetti in disposizione ordinata. I cluster sono generati nei nanopozzetti nei quali viene eseguito il sequenziamento.

Ciascuna cella a flusso dispone di più corsie per il sequenziamento di librerie raggruppate in pool. La cella a flusso S2 ha due corsie e la cella a flusso S4 ne ha quattro. Ciascuna corsia viene sottoposta a imaging in strisce multiple, quindi il software divide l'immagine di ciascuna striscia in porzioni più piccole chiamate tile.

Alcuni graffi e altri difetti estetici minori sulla cella a flusso sono normali e si ritiene che non influiscano sulla qualità e sulla resa dei dati. Illumina consiglia di utilizzare queste celle a flusso come di consueto.

Figura 9 Celle a flusso



- A. Cartuccia della cella a flusso
- B. Cella a flusso a quattro corsie (S4)
- C. Cella a flusso a due corsie (S2)

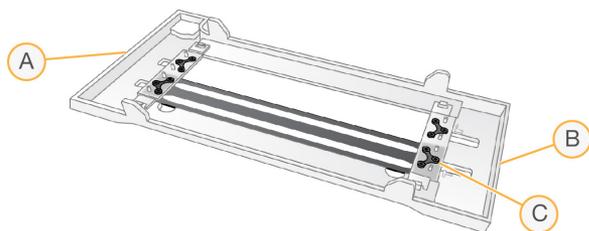
La parte inferiore di ciascuna cella a flusso ha guarnizioni multiple. Le librerie e i reagenti entrano nelle corsie della cella a flusso attraverso le guarnizioni sul lato di entrata della cella a flusso. I reagenti usati vengono drenati dalle corsie attraverso le guarnizioni sul lato di uscita.



ATTENZIONE

Evitare di toccare le guarnizioni quando si manipola la cella a flusso.

Figura 10 Cella a flusso capovolta



- A. Lato di uscita
- B. Lato di entrata
- C. Guarnizione (una di quattro)

Dettagli delle cartucce di tamponi, con cluster e SBS

Le cartucce di tamponi, con cluster e SBS NovaSeq 6000Dx dispongono di serbatoi sigillati pre-riempiti con reagenti, tamponi e soluzione di lavaggio. Le cartucce Cluster e SBS sono incluse nei kit di reagenti NovaSeq 6000Dx. La cartuccia di tamponi è venduta separatamente.

Le cartucce vengono caricate direttamente sullo strumento, sono codificate a colori ed etichettate per ridurre gli errori di caricamento. Le guide presenti nel cassetto del vano refrigerato per i reagenti e nel cassetto dei tamponi assicurano il corretto orientamento.

Tabella 11 Cartucce NovaSeq 6000Dx

Materiale di consumo	Descrizione
<p>Cartuccia di tamponi</p> 	<p>Pre-riempita con tamponi di sequenziamento e pesa fino a 6,8 kg. Una maniglia in plastica facilita il trasporto, il caricamento e lo scaricamento.</p> <p>La cartuccia di tamponi contiene reagenti sensibili alla luce. Conservare il contenitore dei tamponi imballato fino al momento dell'uso.</p>

Materiale di consumo	Descrizione
<p data-bbox="145 279 368 363">Cartuccia con cluster</p> 	<p data-bbox="368 279 1382 443">Pre-riempita con reagenti PE, di indicizzazione, con cluster e soluzione di lavaggio. Include una posizione designata per la provetta delle librerie. L'etichettatura arancione distingue la cartuccia con cluster dalla cartuccia SBS.</p> <p data-bbox="368 485 1382 646">Un reagente di denaturazione nella posizione n. 30 contiene formammide, un'ammide organica e una tossina riproduttiva. Per semplificare lo smaltimento sicuro di qualsiasi reagente non utilizzato dopo una corsa di sequenziamento, questo serbatoio è rimovibile.</p>
<p data-bbox="145 646 368 688">Cartuccia SBS</p> 	<p data-bbox="368 646 1382 856">Pre-riempita con i reagenti per il sequenziamento a volumi specifici per il numero di cicli supportati dal kit. Ciascuna delle tre posizioni di reagente presenta una posizione riservata adiacente per il lavaggio post-corsa automatico. L'etichettatura grigia distingue la cartuccia SBS dalla cartuccia con cluster.</p> <p data-bbox="368 898 1382 970">La cartuccia SBS contiene reagenti sensibili alla luce. Conservare il contenitore dell'SBS imballato fino al momento dell'uso.</p>

Serbatoi riservati per cartucce con cluster

Tre serbatoi sono riservati per i primer personalizzati e una posizione vuota è riservata per la provetta delle librerie. Per tracciare i campioni, la provetta delle librerie viene caricata nella cartuccia con cluster durante l'impostazione della corsa e rimane nella cartuccia fino al termine della corsa.

Figura 11 Serbatoi numerati

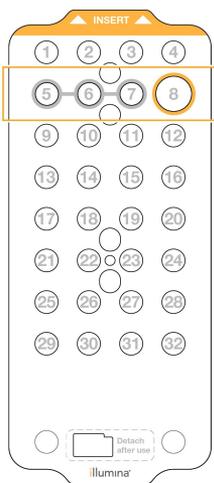


Tabella 12 Serbatoi delle cartucce con cluster

Posizione	Riservata per
5, 6 e 7	Primer personalizzati facoltativi
8	Provetta della libreria

Apparecchiature e materiali di consumo forniti dall'utente

Tabella 13 Materiali di consumo

Materiale di consumo	Fornitore	Scopo
Flacone per centrifuga, 500 ml	Fornitore di laboratorio generico	Diluizione di Tween 20 per un lavaggio di manutenzione.
Provetta per centrifuga, 30 ml	Fornitore di laboratorio generico	Diluizione di NaOCl per un lavaggio di manutenzione.
Guanti monouso, privi di polvere	Fornitore di laboratorio generico	Uso generico.
Salviettine imbevute di alcol isopropilico al 70% oppure Salviettine imbevute di alcol etanolo al 70%	VWR, n. di catalogo 95041-714, o equivalente Fornitore di laboratorio generico	Pulizia dei componenti prima di una corsa e per uso generico.

Materiale di consumo	Fornitore	Scopo
Panno da laboratorio a bassissimo rilascio di particelle	VWR, n. di catalogo 21905-026, o equivalente	Asciugatura del piano portacelle e per uso generico.
NaOCl di grado reagente, 5%	Sigma-Aldrich, n. di catalogo 239305	Esecuzione di un lavaggio di manutenzione.
Punte per pipette da 2 µl	Fornitore di laboratorio generico	Pipettamento per la diluizione e il caricamento delle librerie.
Punte per pipette da 20 µl	Fornitore di laboratorio generico	Pipettamento per la diluizione e il caricamento delle librerie.
Punte per pipette da 200 µl	Fornitore di laboratorio generico	Pipettamento per la diluizione e il caricamento delle librerie.
Punte per pipette da 1.000 µl	Fornitore di laboratorio generico	Pipettamento per la diluizione e il caricamento delle librerie.
Reagente o alcol isopropilico per spettrofotometria (99%), flacone da 100 ml	Fornitore di laboratorio generico	Pulizia periodica dei componenti ottici e supporto della cartuccia di pulizia dell'obiettivo.
Tween 20	Sigma-Aldrich, n. di catalogo P7949	Esecuzione di un lavaggio di manutenzione.
Acqua da laboratorio	Fornitore di laboratorio generico	Diluizione di Tween 20 e di sodio ipoclorito per un lavaggio di manutenzione.

Tabella 14 Apparecchiatura

Apparecchio	Fornitore
Congelatore, tra -25 °C e -15 °C	Fornitore di laboratorio generico
Cilindro graduato, 500 ml, sterile	Fornitore di laboratorio generico
Portaghiaccio	Fornitore di laboratorio generico
Pipette, 20 µl	Fornitore di laboratorio generico
Pipette, 200 µl	Fornitore di laboratorio generico
Pipette, 1000 µl	Fornitore di laboratorio generico
Frigorifero, temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C	Fornitore di laboratorio generico
Vasca, bagni d'acqua*	Fornitore di laboratorio generico

* Utilizzare una vasca in grado di contenere due cartucce di reagenti e il corretto livello di acqua. Ad esempio, (61 cm × 91,4 cm × 25,4 cm)

Linee guida per l'acqua da laboratorio

Per eseguire le procedure dello strumento utilizzare sempre acqua da laboratorio o acqua deionizzata. Non usare mai acqua di rubinetto. Utilizzare solo acqua da laboratorio o gli equivalenti seguenti:

- Acqua deionizzata
- PW1 Illumina
- Acqua con resistività pari a 18 Megohm (M Ω)
- Acqua Milli-Q
- Acqua Super-Q
- Acqua sterile per biologia molecolare

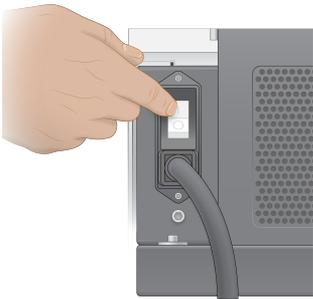
Configurazione del sistema

Questa sezione fornisce istruzioni per l'impostazione dello strumento, comprese le descrizioni dei menu dello strumento e delle impostazioni in essi contenute.

Avvio dello strumento

Alla prima accensione, NVOS viene avviato con una serie di schermate che guidano l'utente nella prima configurazione. La prima configurazione comprende l'esecuzione di un controllo del sistema per confermare le prestazioni dello strumento e la configurazione delle impostazioni del sistema.

1. Premere il lato di accensione (I) dell'interruttore che si trova nella parte posteriore dello strumento.



2. Attendere che l'interruttore di alimentazione che si trova sul lato destro dello strumento emetta una luce blu, quindi premere l'interruttore.



3. Attendere che il sistema operativo completi il caricamento. Utilizzare l'icona NVOS per avviare il software di controllo. Dopo l'inizializzazione del sistema, viene visualizzata la schermata Sign In (Accedi).
4. Immettere il nome utente e la password dell'amministratore forniti dal rappresentante Illumina al momento dell'installazione.

Accesso remoto

L'interfaccia dello strumento è accessibile sia sullo strumento che da remoto tramite un browser compatibile. Per accedere allo strumento da remoto, utilizzare l'indirizzo e le informazioni sull'account utente forniti dal rappresentante Illumina. I browser compatibili sono Chrome/Chromium, Edge, Firefox e Safari.

Menu Settings (Impostazioni)

Per accedere alle seguenti impostazioni, utilizzare l'icona del menu in alto a sinistra di qualsiasi schermata.

Impostazione	Descrizione	Menu integrato sullo strumento	Menu browser
Informazioni su DRAGEN	Visualizza le informazioni su DRAGEN Server, tra cui: <ul style="list-style-type: none"> • Versioni di DRAGEN installate • Informazioni sulla licenza • Numero di serie FPGA 	X	X
Informazioni sullo strumento	Visualizza le informazioni sullo strumento, tra cui: <ul style="list-style-type: none"> • Nome dello strumento • Versione NVOS • Numero di serie • Spazio disponibile • Versione DRAGEN 	X	
Registro dei controlli	Visualizza i registri degli utenti, tra cui: <ul style="list-style-type: none"> • Nome utente • Tipo di azione • Descrizione dell'azione • Data e ora dell'azione 	X	X

Impostazione	Descrizione	Menu integrato sullo strumento	Menu browser
DRAGEN	Modificare le impostazioni di DRAGEN Server. Consultare Configurazione di DRAGEN Server alla pagina 40 per ulteriori informazioni.	X	X
Memoria esterna per l'analisi	Configurare la memoria esterna.	X	X
Associazione dello strumento	Associare lo strumento con DRAGEN Server.	X	
Impostazioni strumento	Visualizzare e modificare le impostazioni RUO, IVD e globali.	X	
Schermata Process Management (Gestione processo)	Gestire lo spazio su disco.	X	
Gestione utenti	Visualizzare e modificare le informazioni sull'utente. Consultare Account utente alla pagina 36 per ulteriori informazioni.	X	X

Schermata Process Management (Gestione processo)

La schermata Process Management (Gestione processo) è accessibile dal menu delle impostazioni dello strumento. Utilizzare la schermata per monitorare il progresso della corsa e gestire lo spazio su disco. Non eliminare mai i file e le cartelle direttamente da C:\.

Process Management (Gestione processo) visualizza lo spazio su disco disponibile, lo spazio usato su CE e C:\ lo stato delle corse che utilizzano lo spazio su disco. Le colonne Date (Data) e Name (Nome) della corsa identificano ciascuna corsa. Per ciascuna corsa, Process Management (Gestione processo) elenca lo stato dei seguenti componenti:

- **Run Status** (Stato corsa): in base all'elaborazione dei file CBCL.
- **DRAGEN Server** : in base al trasferimento di file a Illumina DRAGEN Server per NovaSeq 6000Dx.
- **Network** (Rete): in base al trasferimento dei file utilizzando Universal Copy Service.

Tabella 15 Icone di stato della schermata Process Management (Gestione processo)

Processo	Icona	Descrizione
Stato della corsa	 Running	La corsa è in elaborazione.
	 Complete	La corsa ha completato il sequenziamento o l'analisi.
DRAGEN Server	 Uploading	I file vengono caricati su DRAGEN Server.
	 Complete	Tutti i file vengono caricati su DRAGEN Server.
Rete	 Copying	I file sono stati copiati nella cartella di output sulla rete.
	 Complete	Tutti i file sono stati copiati nella cartella di output sulla rete.
	N/A	Non è applicabile in quanto la corsa non è configurata per il caricamento in una cartella di output sulla rete o non è noto lo stato di caricamento.

Per ulteriori informazioni sulla risoluzione dei problemi di gestione dei processi, consultare [Risoluzione dei problemi alla pagina 75](#).

Account utente

Le impostazioni dell'account utente si trovano nella schermata User Management (Gestione utente), accessibile dal menu Settings (Impostazioni) dello strumento e dal browser. Solo gli amministratori possono accedere alla schermata User Management (Gestione utenti). Per utilizzare lo strumento è necessario aver eseguito l'accesso.

Permessi dell'applicazione

Non è possibile utilizzare un'applicazione che non è stata assegnata all'utente.

Password

Per impostazione predefinita, le password devono essere reimpostate almeno ogni 180 giorni. Gli utenti amministratori possono configurare le impostazioni per richiedere un ripristino più frequente della password. Modificare la password nella schermata User Management (Gestione utenti) o selezionando l'icona del proprio utente in alto a destra dell'interfaccia.

Illumina non memorizza né conserva le credenziali di accesso dei clienti. La sicurezza della password è

responsabilità dell'utente.

Ruoli dell'utente

Per impostazione predefinita, ai nuovi account utente viene assegnato il ruolo di utente. I ruoli di amministratore e operatore forniscono ulteriori autorizzazioni.

Tabella 16 Privilegi utente

Permessi	Amministratore	Operatore	Utente
Concedere l'accesso alle funzioni di amministratore	X		
Configurare le impostazioni e le autorizzazioni dell'app	X		
Associare lo strumento e il server	X		
Avviare il lavaggio	X	X	
Impostare e avviare le corse di sequenziamento	X	X	
Visualizzare le corse di sequenziamento in corso	X	X	X
Uscire e ridurre a icona l'applicazione	X		
Accedere alla schermata Process Management (Gestione processi)	X	X	
Accedere alle impostazioni dello strumento	X		
Spegnere lo strumento	X	X	
Cambiare le password dimenticate	X		
Visualizzare il registro di controllo dello strumento	X		

Impostazioni strumento

La schermata Instrument Settings (Impostazioni strumento) è composta da tre schede : Global Settings (Impostazioni globali), IVD Settings (Impostazioni IVD) e Impostazioni RUO (RUO Settings).

Impostazioni globali

Le Impostazioni globali includono le seguenti opzioni:

- **Instrument mode** Modalità strumento: controlla se gli utenti possono passare dalla modalità IVD a quella RUO.
- **Proactive Support** (Supporto proattivo): consente di attivare il monitoraggio del supporto proattivo.
- **User Idle Timeout** (Timeout inattività utente): consente di controllare la quantità di tempo in cui lo strumento può rimanere inattivo prima di disconnettere gli utenti.

Impostazioni IVD

Le Impostazioni IVD si applicano quando lo strumento è in modalità IVD.

- **Run Setup** (Configurazione corsa): seleziona la modalità della corsa. Consultare [Configurazione della modalità della corsa alla pagina 38](#) per ulteriori informazioni.
- **Output Location** (Posizione output dei dati): seleziona la posizione del server per i dati in uscita. Consultare [Output dei dati e archiviazione alla pagina 39](#) per ulteriori informazioni sull'uscita dei dati.

Impostazioni RUO

Le impostazioni RUO comprendono le seguenti opzioni:

- **Run Setup** (Configurazione corsa): seleziona la modalità della corsa. Consultare [Configurazione della modalità della corsa alla pagina 38](#) per ulteriori informazioni.
- **Default Workflow Type** (Tipo di flusso di lavoro predefinito): controlla se il flusso di lavoro di NovaSeq Xp è impostato come tipo di flusso di lavoro predefinito. NovaSeq Xp è disponibile solo in modalità RUO.
- **Output Location** (Posizione output dei dati): seleziona la posizione del server per i dati in uscita. Consultare [Output dei dati e archiviazione alla pagina 39](#) per ulteriori informazioni sull'uscita dei dati.
- **BaseSpace Sequence Hub Proactive Support** (Supporto proattivo): consente di attivare il monitoraggio del supporto proattivo.

Configurazione della modalità della corsa

La modalità della corsa viene selezionata mediante la levetta nelle schermate Sequencing (Sequenziamento), Runs (Corse) e Applications (Applicazioni). Selezionare **Instrument Settings** (Impostazioni strumento) dal menu principale per impostare la modalità della corsa prima di pianificare o avviare una corsa.

ILLUMINA Run Manager

Programmare una corsa su DRAGEN Server.

1. Dalla schermata Instrument Settings (Impostazioni strumento), passare alla scheda RUO Settings (Impostazioni RUO) o IVD Settings (Impostazioni IVD), a seconda della modalità desiderata.
2. Selezionare l'opzione DRAGEN Server.
3. Selezionare **Save** (Salva).

Modalità di corsa manuale

Creare una corsa inserendo manualmente le informazioni sulla sessione nel software dello strumento. La pianificazione manuale della corsa è disponibile solo in modalità RUO.

1. Dalla schermata Instrument Settings (Impostazioni strumento), passare alla scheda RUO Settings (Impostazioni RUO).
2. Selezionare l'opzione di impostazione della corsa manuale.
3. Immettere le impostazioni dell'indice e selezionare **Save** (Salva).

Output dei dati e archiviazione

La tabella seguente indica i tipi di file e i requisiti minimi di archiviazione per una corsa di sequenziamento e un'analisi secondaria. La tabella elenca i requisiti per una corsa con cella a flusso doppia eseguita da ciascun tipo di cella a flusso.

Per corse con singola cella a flusso, i requisiti di spazio minimo sono la metà di quelli indicati nella tabella. Le configurazioni di esecuzione alternative hanno requisiti di archiviazione diversi.

Tipo di file	S2 da 300 cicli (GB)	S4 da 300 cicli (GB)
CBCL	930	2.800
Cartella InterOp	2,3	7,0
FASTQ	1125	3387
BAM	1050	3160
gVCF e VCF	28	84

Le posizioni di archiviazione montate su mappa utilizzano il percorso UNC completo. Non utilizzare lettere o collegamenti simbolici.

Esempio di utilizzo dei dati

La tabella seguente fornisce un esempio di costruzione di un'infrastruttura che supporti i dati generati con Strumento NovaSeq 6000Dx. La tabella elenca le opzioni di archiviazione dei dati per l'analisi del sequenziamento del genoma intero con BaseSpace Sequence Hub.

Gli esempi ipotizzano che una corsa a 300 cicli con doppia cella a flusso con celle a flusso S2 generi 2 TB di dati a un tasso di utilizzo di 10 cicli al mese. I punti di dati S4 sono estrapolati dalle ipotesi su S2.

- Regolare i numeri della tabella per un tasso di utilizzo inferiore. Se si prevede di eseguire analisi ripetute dei set di dati, aumentare lo spazio di archiviazione in proporzione.
- Poiché l'effettiva conservazione dei dati è soggetta alle politiche locali, confermare le condizioni prima di calcolare le esigenze di archiviazione.
- Le dimensioni delle corse variano in base a diversi fattori, tra cui la lunghezza e la percentuale di filtro passante (Pass Filter, PF). I numeri forniti sono da intendersi come una guida alla gamma relativa dell'impronta dei dati.

Tipo di file	Periodo di tempo	Numero di corse	S2 da 300 cicli (TB)	S4 da 300 cicli (TB)
BAM	Mensilmente	10 corse/1 mese per sistema*	14	42
BAM	Annualmente	120 corse/1 anno per sistema	168	504
VCF e gVCF	Mensilmente	10 corse/1 mese per sistema	0,3	0,9
VCF e gVCF	Annualmente	120 corse/1 anno per sistema	3,6	10,8

* L'archiviazione per il backup e l'archiviazione dei dati non è incluso.

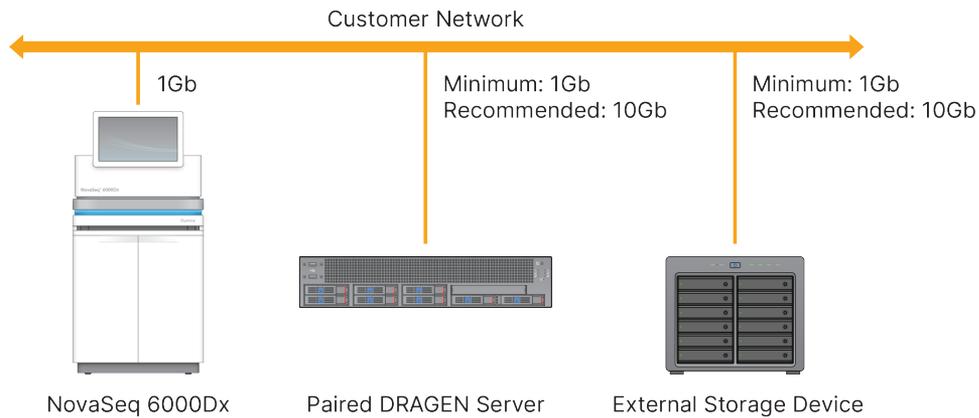
Configurazione di DRAGEN Server

La schermata About (Informazioni) DRAGEN Server contiene informazioni su DRAGEN Server, compresi i dettagli del server e le informazioni sulla licenza. Selezionare About (Informazioni) DRAGEN Server dal menu Settings (Impostazioni) sullo strumento o utilizzando un browser.

Requisiti di rete di DRAGEN Server

NovaSeq 6000Dx richiede una connessione alla rete a DRAGEN Server. DRAGEN Server e NovaSeq 6000Dx sono collegati attraverso la rete locale utilizzando un indirizzo IP indipendente per ciascuno di essi. La connessione di rete minima richiesta tra NovaSeq 6000Dx, DRAGEN Server e l'unità di archiviazione esterna è di un Gb. Per velocizzare le tempistiche di trasferimento dei dati, si consiglia una connessione da 10 Gb per DRAGEN Server e l'archiviazione esterna. Illumina Run Manager consente l'accodamento di più analisi su DRAGEN Server.

Figura 12 Rete NovaSeq 6000Dx-DRAGEN Server



Il server richiede l'assegnazione di un nome di dominio nel sistema dei nomi di dominio (Domain Name System, DNS) dell'utente. È consigliabile, ma facoltativo, assegnare i certificati di Sicurezza del livello di trasporto (Transport Layer Security, TLS) al nome di dominio del server per garantire la crittografia dei dati durante il trasferimento sulla rete locale. Se non è possibile fornire certificati TLS, il sistema utilizzerà certificati autogenerati.

Associazione di DRAGEN Server

Un rappresentante Illumina associa Strumento NovaSeq 6000Dx a DRAGEN Server durante l'impostazione iniziale. Se il server si scollega dallo strumento, seguire le seguenti istruzioni. Per completare l'associazione è necessario un account utente amministratore.

1. Dal menu Settings (Impostazioni) selezionare **Instrument Pairing** (Associazione dello strumento). Si apre la finestra Instrument Pairing (Associazione dello strumento).
2. Immettere il nome di dominio del server.
3. Confermare il certificato di fiducia del server e selezionare **Log In** (Accedi).
4. Accedere con un account utente amministratore valido.
5. Nella schermata Confirm and Pair (Conferma e Associa), selezionare **Pair** (Associa).

Menu principale

Il menu principale si trova sul lato sinistro dell'interfaccia utente. Il menu principale è sempre visibile, tranne che sullo strumento quando è in corso l'impostazione della corsa. Il menu principale contiene icone che consentono di accedere alle seguenti schermate:

- **Sequencing** (Sequenziamento): avvia il sequenziamento o il lavaggio dalla schermata Sequenziamento. La schermata Sequencing (Sequenziamento) è visibile a tutti gli utenti.
- **Runs** (Corse): visualizza le corse pianificate, attive e completate. Le corse sono visibili a tutti gli utenti.

- **Applications** (Applicazioni): visualizza le applicazioni installate e assegna le autorizzazioni alle applicazioni utente. Le applicazioni sono visibili agli amministratori tramite lo strumento e il browser.

Corse Schermata

Corse pianificate

Le corse pianificate su DRAGEN Server vengono visualizzate nella scheda Planned (Pianificata) della schermata Runs (Corse). Per modificare o eliminare una corsa pianificata, selezionare la corsa e poi selezionare Edit (Modifica) o l'icona del cestino. Le corse pianificate possono esistere in uno dei seguenti stati:

- **Draft** (Bozza): la corsa è stata creata ma non è disponibile per il sequenziamento.
- **Planned** (Pianificata): la corsa è stata creata ed è disponibile per iniziare il sequenziamento
- **Needs Attention** (Necessità di attenzione): ci sono problemi con la corsa che richiedono l'intervento dell'utente. Selezionare la corsa per modificarla o eliminare l'errore. Lo stato viene modificato in Planned (Pianificata).
- **Locked** (Bloccata): nel caso in cui si verifichi un problema con lo strumento, blocca automaticamente la corsa. Per sbloccare una corsa, selezionarla e poi scegliere **Unlock** (Sblocca).

Corse attive

Qualsiasi corsa in corso che non abbia completato tutte le fasi di sequenziamento e analisi viene visualizzata come attiva. Selezionare una corsa attiva per visualizzare ulteriori dettagli sullo stato o annullare l'analisi.

Nella scheda Active (Attive) sono visualizzate anche le corse con errori che ne hanno impedito il completamento. Selezionare la corsa per visualizzare i messaggi di errore e riavviare l'analisi (se possibile).

Corse completate

Le corse completate hanno terminato tutte le fasi di sequenziamento e analisi. Selezionare una corsa per visualizzare i dettagli della corsa o richiedere l'analisi.

Applicazioni

La schermata Applications (Applicazioni) consente di configurare le impostazioni delle applicazioni installate e di assegnare le applicazioni agli utenti. I campi esatti visualizzati nella schermata di configurazione variano a seconda dell'applicazione, ma possono includere i seguenti:

- **Application name** (Nome dell'applicazione)
- **Application version** (Versione dell'applicazione)
- **DRAGEN version** (Versione DRAGEN)

- **Library prep kits** (Kit di preparazione delle librerie): seleziona i kit di preparazione delle librerie predefiniti da utilizzare con l'applicazione.
- **Index adapter kits** (Kit adattatore indice): seleziona i kit adattatore indice predefiniti da utilizzare con l'applicazione.
- **Read type** (Tipo di lettura): seleziona un tipo di lettura predefinito.
- **Read lengths** (Lunghezze di lettura): seleziona le lunghezze di lettura predefinite.
- **Reference genome** (Genoma di riferimento): carica e seleziona un genoma di riferimento da utilizzare con l'applicazione.
- **Output file formats** (Formati di file di output): seleziona i formati di file di output preferiti.
- **Targeted regions list builder** (Creatore di elenchi di regioni target): carica e seleziona uno o più file di regioni target da utilizzare con l'applicazione. Per ogni app deve essere abilitato almeno un file.
- **Systematic noise file** (File di rumore sistematico): carica e seleziona uno o più file di rumore da utilizzare con l'applicazione. Per ogni app deve essere abilitato almeno un file.

Permessi degli utenti dell'applicazione

È possibile assegnare le autorizzazioni delle applicazioni agli utenti in User Management (Gestione utenti) o selezionando gli utenti quando si imposta una nuova app.

Rete e sicurezza dello strumento

Per ulteriori informazioni sulla sicurezza dello strumento e sulle connessioni di rete, consultare [Controllo sicurezza informatica e networking dello strumento Illumina](#). Le sezioni seguenti contengono informazioni sulla sicurezza e sulla rete specifiche per NovaSeq 6000Dx.

Illumina non installa o fornisce assistenza tecnica per le connessioni di rete. Rivedere le attività di manutenzione della rete per eventuali rischi di compatibilità con Strumento NovaSeq 6000Dx .

Connessioni di rete

Utilizzare le seguenti linee guida per installare e configurare una connessione di rete:

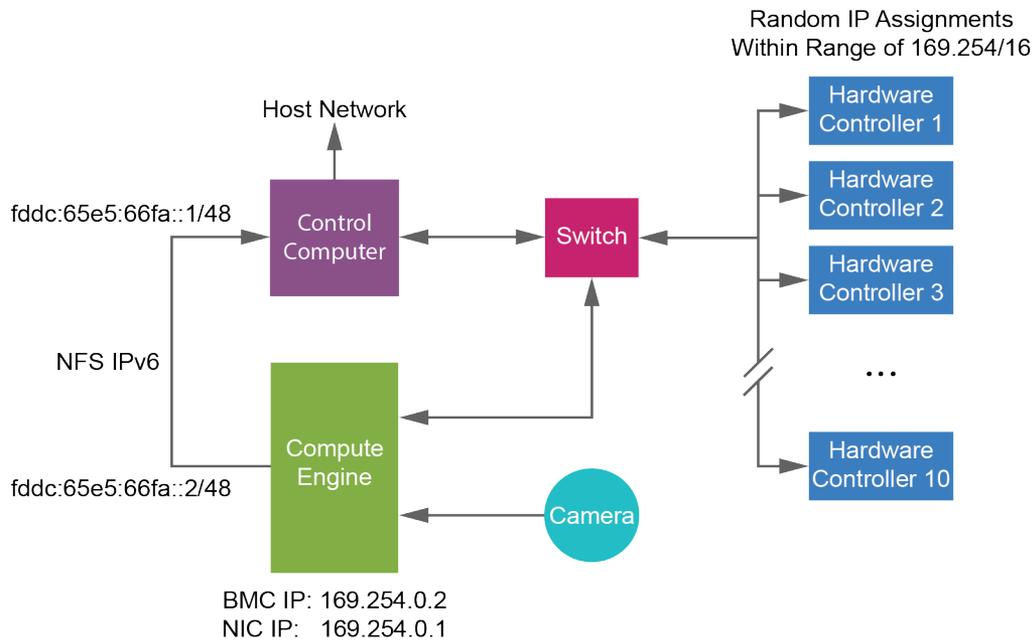
- Utilizzare una connessione da 1 gigabit tra lo strumento e il sistema di gestione dati. Utilizzare una connessione diretta o uno switch di rete.
- L'ampiezza di banda richiesta per una connessione è la seguente.
 - 200 Mb/s/strumento per i caricamenti interni sulla rete.
 - 200 Mb/s/strumento per i caricamenti sulla rete BaseSpace Sequence Hub.
 - 5 Mb/s/strumento per i caricamenti dei dati operativi dello strumento.
- Gli switch devono essere gestiti.
- Gli strumenti di rete, come gli switch, devono avere una capacità minima di almeno 1 gigabit per secondo.

- Calcolare la capacità totale del carico di lavoro su ciascun switch di rete. Il numero di strumenti collegati e la strumentazione ausiliare, come una stampante, possono incidere sulla capacità.
- Se possibile, isolare il traffico del sequenziamento da altro traffico sulla rete.
- Illumina raccomanda l'uso di cavi CAT-6 (il requisito minimo è CAT-5e). Lo strumento è dotato di un cavo di rete schermato lungo 3 metri per le connessioni di rete.

Collegamenti del computer di controllo

Affinché il sistema funzioni correttamente, riservare gli intervalli IP 169.254/16 e IPv6 fddc:65e5:66fa::*.

Figura 13 Illustrazione della rete



NOTA Il CE non è visibile sulla rete host.

Collegamenti interni

Tabella 17 Collegamenti interni

Collegamento	Valore	Scopo
Dominio	localhost:*	Tutte le porte per la comunicazione da localhost a localhost, che sono necessarie per la comunicazione tra i processi.

Collegamento	Valore	Scopo
Porta	5555	Interfaccia controller hardware
	9030	Analisi in tempo reale
	8080	Software operativo NovaSeq
	29644	Universal Copy Service
	22, 80, 111, 443, 623, 2049, 5900, 8889, 9980, fddc:65e5:66fa::1/48, fddc:65e5:66fa::2/48	Trasferimento dei dati
	29000	Orchestratore dello strumento

Collegamenti esterni

Le informazioni sulla connessione in uscita includono informazioni sul dominio e sull'indirizzo IP per configurare l'accesso ai domini BaseSpace Sequence Hub, Illumina Proactive, gli aggiornamenti del software e il caricamento dei dati di esecuzione e delle prestazioni.

Tabella 18 Indirizzi IP e porte

Componente	TCP	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	n/d	169.254.0.1
Controller Hardware	n/d	n/d	169.254.x.x/16

Software antivirus

Può essere utilizzato un software antivirus a scelta per proteggere il computer di controllo dello strumento.

Al fine di evitare perdita di dati o interruzioni, configurare il software antivirus come segue.

- Impostare le scansioni manuali. Non abilitare le scansioni automatiche.
- Eseguire le scansioni manuali solo quando lo strumento non è in uso.

- Impostare gli aggiornamenti affinché vengano scaricati ma *non installati* senza l'autorizzazione dell'utente.
 - Installare il software antivirus solo quando lo strumento non è in uso e si può riavviare il computer.
 - Non consentire il riavvio automatico del computer dopo l'installazione.
- Escludere la directory dell'applicazione e le unità contenenti i dati da qualsiasi protezione del file system in tempo reale.

Protocollo

Questa sezione fornisce istruzioni passo passo su come preparare i materiali di consumo e impostare una corsa di sequenziamento. Rivedere tutte le informazioni contenute in [Sicurezza e conformità alla pagina 7](#) prima di iniziare una corsa di sequenziamento.

Creare una corsa di sequenziamento

Per creare una corsa mediante Illumina Run Manager in modalità IVD o RUO, procedere come segue. In alternativa, selezionare **Import Run** (Importa corsa) nella scheda Planned (Pianificate) della pagina Runs (Corse) e importare un foglio campione. Creare nuove corse sullo strumento o accedendo a Illumina Run Manager con un browser su un computer in rete.

NOTA Le informazioni esatte richieste da ciascuna applicazione di analisi sono diverse, ma il processo di creazione di una corsa comprende le seguenti fasi.

1. Dalla scheda Planned (Pianificate) della schermata Runs (Corse), selezionare **Create Run** (Crea corsa).
2. Selezionare un'applicazione, poi selezionare **Next** (Avanti).
3. Procedere con le schermate di impostazione. A seconda dell'applicazione, le schermate visualizzate possono essere le seguenti:
 - **Run Settings** (Impostazioni della corsa): immettere i parametri della corsa.
 - **Sample Data** (Dati del campione): immettere i dati del campione manualmente o importando un file CSV contenente informazioni sul campione. I nomi dei campioni devono essere univoci.
 - **Analysis settings** (Impostazioni di analisi): immettere le impostazioni per l'analisi.
4. Nella schermata Review (Revisione), rivedere le informazioni sulla corsa e selezionare **Save** (Salva). La corsa viene aggiunta all'inizio dell'elenco delle corse nella scheda Planned (Pianificate).

Preparazione dei materiali di consumo

Scongelamento delle cartucce SBS e con cluster



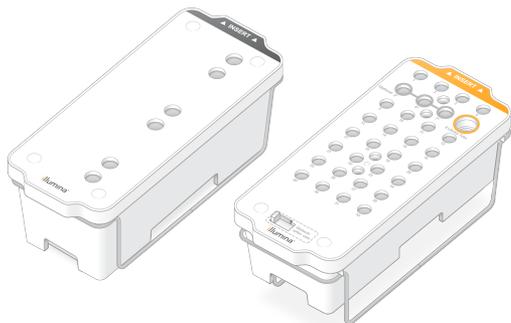
ATTENZIONE

L'utilizzo di acqua calda per lo scongelamento dei reagenti può causare una ridotta qualità dei dati o una corsa non riuscita.

1. Se è in corso una corsa di sequenziamento, assicurarsi che entrambi i lati dello strumento siano disponibili al completamento dello scongelamento.

2. Rimuovere le cartucce SBS e con cluster dalla temperatura di conservazione compresa tra -25°C e -15°C.
3. Posizionare ciascuna cartuccia in una griglia di scongelamento.
I rack sono forniti con lo strumento e impediscono il capovolgimento nel bagno d'acqua.

Figura 14 Cartucce in griglie di scongelamento



4. Fare riferimento alla seguente tabella per determinare la durata dello scongelamento.
Scongelare le cartucce SBS e con cluster a bagnomaria a temperatura ambiente (da 19°C a 25°C) come segue. Immergere le cartucce per circa metà.

Cartuccia	Durata dello scongelamento
Cartuccia SBS S2	4 ore
Cartuccia con cluster S2	Fino a 2 ore
Cartuccia SBS S4	4 ore
Cartuccia con cluster S4	Fino a 4 ore



ATTENZIONE

Il mancato avvio del sequenziamento entro quattro ore dallo scongelamento delle cartucce di reagente può comportare una riduzione della qualità dei dati.

5. Asciugare completamente la base della cartuccia utilizzando fogli di carta. Asciugare tra i pozzetti per rimuovere tutta l'acqua.
6. Ispezionare i sigilli per l'eventuale presenza di acqua. Se è presente acqua, tamponare con un panno che non lascia residui.
7. Ispezionare la parte inferiore di ogni cartuccia per assicurarsi che i recipienti siano privi di ghiaccio, il che significa che i reagenti sono scongelati.
8. Capovolgere ciascuna cartuccia dieci volte per miscelare i reagenti.



ATTENZIONE

La mancata inversione completa delle cartucce può ridurre la qualità dei dati.

9. Picchiettare delicatamente la parte inferiore di ciascuna cartuccia sul banco per ridurre le bolle d'aria.

Caricamento della provetta delle librerie

1. Senza alterare la libreria nella parte inferiore, inserire la provetta delle librerie senza tappo contenente il pool di librerie denaturato e diluito nella posizione **Library Tube** (Provetta delle librerie) (n. 8) della cartuccia con cluster.
2. Immettere la provetta della libreria nella posizione n. 8 della cartuccia con cluster.

Figura 15 Provetta delle librerie senza tappo caricata nella posizione n. 8



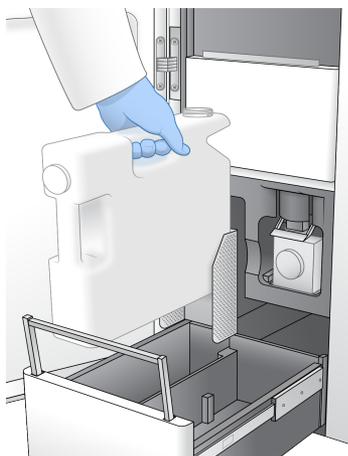
Svuotamento dei flaconi di reagenti usati

Utilizzare le seguenti istruzioni per svuotare i flaconi di reagenti usati con *ogni* corsa di sequenziamento. Se il sistema è configurato per far defluire i reagenti usati all'esterno, il flacone piccolo raccoglie i reagenti usati e deve essere svuotato per ogni corsa di sequenziamento. Il flacone grande deve rimanere in posizione.

1. Rimuovere e svuotare il flacone piccolo dei reagenti usati nel modo seguente.
 - a. Sollevare la leva e rimuovere il flacone piccolo dei reagenti usati dall'alloggiamento. Afferrare il flacone da entrambi i lati.
 - b. Rimuovere il tappo filettato dal supporto dei tappi nella parte anteriore del flacone.
 - c. Sigillare l'apertura del flacone con un tappo per impedire le fuoriuscite.
 - d. Mantenendo i contenuti separati dai contenuti di altri flaconi, smaltire in base agli standard applicabili nella propria regione.
 - e. Rimettere il flacone senza tappo nell'alloggiamento, quindi abbassare la leva. Conservare il tappo sul supporto dei tappi.
2. Rimuovere e svuotare il flacone grande dei reagenti usati nel modo seguente.
 - a. Utilizzando l'impugnatura superiore, rimuovere il flacone grande dei reagenti usati dal lato sinistro del cassetto dei tamponi.
 - b. Rimuovere il tappo filettato dal supporto dei tappi nella parte anteriore del flacone.

- c. Sigillare l'apertura del flacone con un tappo per impedire le fuoriuscite.
- d. Smaltire i contenuti in base agli standard applicabili nella propria regione. Tenere saldamente le impugnature durante lo svuotamento.
- e. Rimettere il flacone senza tappo nel cassetto dei tamponi. Conservare il tappo sul supporto dei tappi.

Figura 16 Riposizionamento del flacone vuoto nel suo alloggiamento



3. Indossare un nuovo paio di guanti privi di polvere.



ATTENZIONE

Indossare sempre un nuovo paio di guanti dopo aver maneggiato il flacone di reagente usato.

4. Chiudere il cassetto dei tamponi, quindi chiudere gli sportelli dello scomparto dei liquidi.



ATTENZIONE

Se i flaconi di reagenti usati non vengono svuotati si potrebbe verificare una corsa terminata e una fuoriuscita, che potrebbe danneggiare lo strumento e porre un rischio di sicurezza.

Preparazione della cella a flusso

1. Rimuovere dalla confezione una nuova cella a flusso inscatolata dalla temperatura di conservazione compresa tra 2°C e 8°C.
2. Tenere da parte la confezione sigillata della cella a flusso a temperatura ambiente (da 19°C a 25°C) per 10-15 minuti.
Utilizzare la cella a flusso entro 12 ore dalla rimozione dalla confezione.

Caricamento dei materiali di consumo

Utilizzare le seguenti istruzioni per avviare l'impostazione della corsa e caricare i materiali di consumo.

1. Dal menu principale selezionare **Sequence** (Sequenziamento) quindi selezionare una corsa con singola cella a flusso o doppia cella a flusso come segue.
 - **A+B**: imposta una corsa con doppia cella a flusso.
 - **A**: imposta una corsa con singola cella a flusso sul lato A.
 - **B**: imposta una corsa con singola cella a flusso sul lato B.

Il sistema avvia l'impostazione della corsa, iniziando con il caricamento della cella a flusso.

2. Selezionare **OK** per accettare l'avvertenza e aprire lo sportello della cella a flusso.



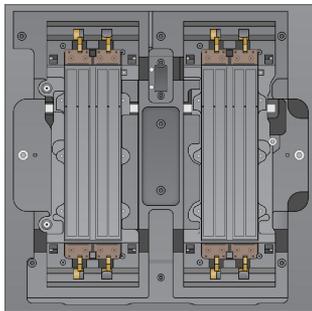
ATTENZIONE

Mantenere la superficie libera durante la corsa di sequenziamento ed evitare di appoggiarsi allo strumento. Premere sullo sportello della cella a flusso per aprirla. Questa azione arresta la corsa. Le corse arrestate non possono essere riprese.

Caricamento della cella a flusso

1. Se presente, rimuovere la cella a flusso utilizzata nella corsa precedente.
2. Se sono visibili particelle sul piano portacelle, pulire l'intero piano, inclusi l'interfaccia della fluidica e la superficie di vetro del target dell'allineamento ottico con una salviettina imbevuta di alcol. Asciugare con un panno che non lascia residui.

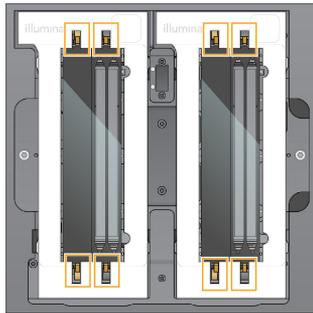
Figura 17 Piano portacelle



3. Rimuovere la cella a flusso dalla confezione come segue.
 - a. Indossare un nuovo paio di guanti privi di polvere per evitare di contaminare la superficie in vetro della cella a flusso.
 - b. Tenendo la confezione su una superficie piana, aprirla partendo dal sigillo angolato.
 - c. Rimuovere il contenitore in plastica trasparente che copre la cella a flusso.
 - d. Rimuovere la cella a flusso dalla confezione. Afferrare la cella a flusso dai lati evitando di toccare il vetro o le guarnizioni nella parte inferiore.

- e. Se sono visibili particelle sulle superfici di vetro, pulire la superficie interessata con una salviettina imbevuta di alcol che non lascia residui e asciugare con un panno da laboratorio a bassissimo rilascio di particelle.
 - f. Eliminare la confezione in base alle procedure di smaltimento.
4. Allineare la cella a flusso sopra i quattro morsetti sollevati e posizionarla sul piano portacelle.

Figura 18 Celle a flusso caricate e allineate sopra i morsetti



5. Selezionare **Close Flow Cell Door** (Chiudi lo sportello della cella a flusso).
Lo sportello della cella a flusso si chiude, i sensori e l'identificazione RFID vengono verificati e l'ID della cella a flusso appare sullo schermo.

Caricamento delle cartucce con cluster e SBS

1. Aprire gli sportelli dello scomparto dei liquidi, quindi aprire lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.
2. Rimuovere le cartucce SBS e con cluster usate, se presenti da una corsa precedente.
Le cartucce usate presentano sigilli perforati.
3. Smaltire i contenuti non utilizzati in base agli standard applicabili.
Per il corretto smaltimento della posizione n. 30 della cartuccia con cluster, vedere [Posizione rimovibile n. 30 alla pagina 59](#).

4. Caricare le cartucce preparate nel cassetto del vano refrigerato per i reagenti come segue, in modo che le etichette Insert (Inserisci) siano rivolte verso la parte posteriore dello strumento.
 - Posizionare la cartuccia SBS (etichetta grigia) nella posizione sinistra.
 - Posizionare la cartuccia con cluster (etichetta arancione) contenente la provetta delle librerie senza tappo nella posizione destra.

Figura 19 Cartucce di reagenti caricate



5. Fare scorrere il cassetto nel vano refrigerato per i reagenti, quindi chiudere lo sportello del vano refrigerato.

Vengono verificati i sensori e i RFID. Gli ID per la provetta delle librerie e le due cartucce vengono visualizzati sulla schermata.

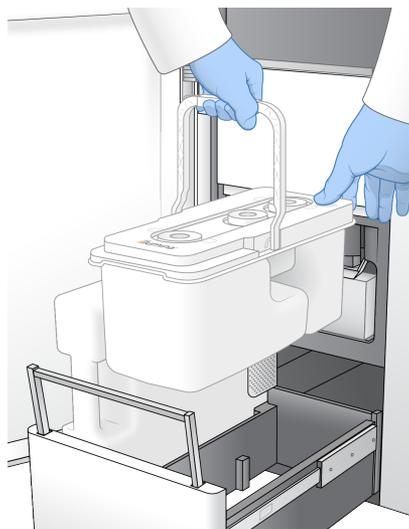
Caricamento della cartuccia di tamponi

1. Tirare la maniglia in metallo per aprire il cassetto dei tamponi.
2. Rimuovere la cartuccia di tamponi usati che si trova sul lato destro del cassetto dei tamponi.

La cartuccia di tamponi usata presenta sigilli perforati.
3. Posizionare una nuova cartuccia di tamponi nel cassetto dei tamponi in modo che l'etichetta Illumina sia rivolta verso la parte anteriore del cassetto. Allineare la cartuccia con le guide sollevate sul piano e sui lati del cassetto.

Quando la cartuccia di tamponi viene caricata e alloggiata correttamente il cassetto si può chiudere.

Figura 20 Caricamento della cartuccia di tamponi



4. Se entrambi i flaconi di reagenti usati sono stati svuotati, selezionare la casella di controllo per confermare che entrambi i flaconi di reagenti usati sono vuoti.

NOTA Se i flaconi di reagenti usati non vengono svuotati si potrebbe verificare una corsa terminata e una fuoriuscita, che potrebbe danneggiare lo strumento e porre un rischio di sicurezza.

5. Una volta aggiunti i materiali di consumo, selezionare **Run Selection** (Esegui selezione) per procedere.

Selezionare e avviare la corsa

Lo strumento esegue una scansione dell'ID della provetta della libreria e cerca una corsa pianificata corrispondente.

1. Se per ogni lato utilizzato viene trovata una corsa pianificata corrispondente all'ID della provetta della libreria, la selezione della corsa viene saltata. Selezionare **Review** (Rivedi) per procedere.
2. Se non ci sono corse corrispondenti per uno o entrambi i lati, selezionare **Run Selection** (Selezione corsa), quindi selezionare una o più corse pianificate.
Non è possibile selezionare la stessa corsa pianificata su entrambi i lati.
3. Quando sono selezionate una o più corse, selezionare **Pre-Run Checks** (Controlli pre-corsa).
4. Il completamento della verifica pre-corsa impiega circa cinque minuti.
Dopo il corretto completamento, la corsa viene avviata automaticamente.

NOTA Per evitare l'eccessivo caricamento del disco rigido, non copiare alcun dato su C:\ dopo l'avviamento della corsa.

Errori della verifica pre-corsa

Per ulteriori informazioni sugli errori del controllo pre-corsa, consultare la sezione [Risoluzione dei problemi alla pagina 75](#).

1. Se le verifiche pre-corsa non viene superata a causa di un errore dei sensori, come una cella a flusso non rilevata, è necessario uscire e riavviare il flusso di lavoro.
2. Se altre verifiche pre-corsa non vengono superate, selezionare **Retry** (Riprova) per riavviare le verifiche non superate o **Retry All** (Riprova tutte) per riavviare tutte le verifiche. Gli errori devono essere risolti prima di poter avviare la corsa.
3. Selezionare l'icona **Errore** per visualizzare i dettagli relativi all'errore.
4. Se la verifica dell'allineamento non viene superata, risolvere l'errore nel modo seguente.
 - a. Selezionare **Reload** (Ricarica), quindi selezionare **OK** per confermare e tornare alla schermata Load (Carica).
 - b. Rimuovere qualsiasi oggetto che si trovi nella parte superiore dello strumento, quindi selezionare **OK**. Lo sportello della cella a flusso si apre.
 - c. Ricaricare la cella a flusso, quindi selezionare **Run Setup** (Impostazione corsa).
 - d. Completare ciascuna schermata per rileggere ogni RFID e tornare alla schermata Pre-Run Checks (Verifiche pre-corsa).
 - e. Rieseguire la verifica.

Monitoraggio del progresso della corsa

Nella schermata Sequencing (Sequenziamento) vengono visualizzati i seguenti dettagli mentre la corsa è in atto. La schermata Sequencing (Sequenziamento) è accessibile dal menu principale.

- **Stato delle singole fasi della corsa**
- **Time to completion** (Data e ora del completamento): la data e l'ora in cui è stata completata la corsa (aaaa-mm-gg hh:mm).
- **Run progress** (Progresso della corsa): l'attuale fase della corsa. La dimensione della barra di progresso non è proporzionale alla velocità della corsa di ciascuna fase.
- **Q-scores** (Punteggi qualitativi): la distribuzione dei punteggi qualitativi.
- **Intensity** (Intensità): il valore delle intensità dei cluster per il 90° percentile per ciascuna tile. I colori del grafico indicano i canali rosso e verde.
- **Clusters Passing Filter (%)** (Cluster che attraversano il filtro - %): la percentuale di cluster che attraversano il filtro.
- **Projected Total Yield (GB)** (Resa totale prevista (GB)): la resa prevista per la corsa della cella a flusso. Se sono state selezionate le metriche (H) i numeri visualizzati corrispondono alla resa attuale per corsia e all'aggiornamento per ogni ciclo per tutta la durata della corsa.

- **Q30** (Punteggio qualitativo 30): la percentuale di identificazioni delle basi per la corsa che ottengono un punteggio qualitativo ≥ 30 .

Icone di stato

Lo stato della corsa è indicato da un'icona di stato sull'interfaccia NVOS. Un numero sull'icona indica il numero di condizioni per uno stato.

Quando uno stato della corsa viene modificato, l'icona lampeggia. Selezionare l'icona per visualizzare una descrizione della condizione. Selezionare **Acknowledge** (Accetta) per cancellare il messaggio, quindi **Close** (Chiudi) per chiudere la finestra di dialogo.

Icona di stato	Nome dello stato	Descrizione
	Stato OK	Le condizioni del sistema sono normali.
	Elaborazione	Il sistema è in fase di elaborazione.
	Avvertenza	Si è verificata un'avvertenza che richiede attenzione. Le avvertenze non arrestano una corsa o richiedono un intervento prima di poter procedere.
	Errore	Si è verificato un errore. Gli errori richiedono un intervento prima di poter procedere con la corsa.
	Informazione	È disponibile un messaggio non urgente.

Metriche della corsa

Il software visualizza le metriche generate durante la corsa. Le metriche vengono visualizzate sotto forma di grafici, diagrammi e tabelle in base ai dati generati da RTA3 e scritti nei file InterOp.

La clusterizzazione dura circa 2 ore, quindi il sequenziamento inizia con il ciclo 1. Le metriche vengono aggiornate man mano che il sequenziamento procede. I cluster che attraversano il filtro, la resa e i punteggi qualitativi sono disponibili dopo il ciclo 26. Prima del ciclo 26, nessun valore viene popolato e vengono indicati come non applicabile.

Avvio di corse scaglionate

È possibile impostare e avviare una corsa sul lato inattivo dello strumento mentre una corsa è in corso sull'altro lato. Questa impostazione viene definita avvio scaglionato. Le corse scaglionate sono impostate a specifici tempi durante una corsa, indicati dagli stati del seguente timer di conto alla rovescia per l'avvio di corse.

- **Run Start: Available** (Avvio corsa: disponibile): l'avvio scaglionato è al momento disponibile. La data e l'ora mostrano quando sarà disponibile l'avvio scaglionato. Selezionare **Sequence** (Sequenziamento) per avviare una nuova corsa scaglionata al completamento del ciclo in corso.
- **Run Start: Unavailable** (Avvio corsa: non disponibile): l'avvio scaglionato non è al momento disponibile. La data e l'ora mostrano quando l'avvio scaglionato sarà disponibile sull'altro lato dello strumento.
- **Waiting...** (In attesa...): se si cerca di avviare una nuova corsa quando l'avvio scaglionato non è disponibile, lo stato cambia in Waiting... (In attesa...) e la data e l'ora mostrano l'ora indicativa in cui lo strumento sarà pronto per la nuova corsa. Lo strumento prosegue con l'impostazione della corsa quando è disponibile l'avvio scaglionato.

Quando si imposta una nuova corsa, il software automaticamente mette in pausa o riprende la corsa sulla cella a flusso adiacente, se necessario. Quando in pausa, il sistema viene messo automaticamente in uno stato sicuro.

Procedura

1. Dalla schermata Home, selezionare **Sequence** (Sequenziamento), quindi selezionare **A** o **B**.
Il lato selezionato deve essere il lato attualmente inattivo.
2. Attendere che la corsa sulla cella a flusso adiacente sia in pausa. Per cancellare la nuova corsa e impedire la messa in pausa, selezionare **Cancel** (Annulla).
Se la corsa adiacente sta eseguendo la generazione di cluster, la risintesi paired-end, l'imaging o il lavaggio, il software completa la fase in corso prima della messa in pausa.
3. Quando la corsa adiacente è messa in pausa e lo sportello della cella a flusso si apre, impostare la nuova corsa.
Dopo che è stata avviata una nuova corsa, la corsa messa in pausa riprende automaticamente, quindi viene avviata la nuova corsa.

Dopo il sequenziamento

Le sezioni seguenti forniscono istruzioni sulle fasi successive al completamento del sequenziamento.

Lavaggio post-corsa automatico

Quando viene completato il sequenziamento, il software avvia un lavaggio post-corsa automatico che richiede circa 80 minuti. Il sistema pompa ipoclorito sodio (NaOCl) allo 0,24% dalla posizione n. 17 e lo diluisce allo 0,12%. NaOCl allo 0,12% viene pompato nel reagente ExAmp e nelle posizioni della libreria, attraverso la cella a flusso, quindi ai flaconi di reagente usato. Il lavaggio risciacqua il modello dal sistema per impedire la contaminazione incrociata.

Al termine del lavaggio, il sistema viene messo in uno stato di sicurezza e il pulsante Home (Inizio) diventa attivo. Lasciare i materiali di consumo in posizione fino alla corsa successiva. Dopo il lavaggio, i pescanti rimangono nelle cartucce SBS e con cluster per impedire che l'aria entri nel sistema. I pescanti nella cartuccia di tamponi vengono sollevati in modo che i flaconi dei reagenti usati possano essere svuotati. Il tampone di lavaggio viene quindi pompato attraverso tutte le linee per eliminare il NaOCl e i reagenti dal sistema.

NOTA Se si verifica un errore durante un lavaggio post-corsa automatico, e il lavaggio post-corsa è incompleto, è richiesto un lavaggio di manutenzione.

Posizione rimovibile n. 30

Il serbatoio in posizione n. 30 della cartuccia con cluster contiene formammide. Il serbatoio viene rimosso dalla cartuccia con cluster usata e smaltito separatamente.



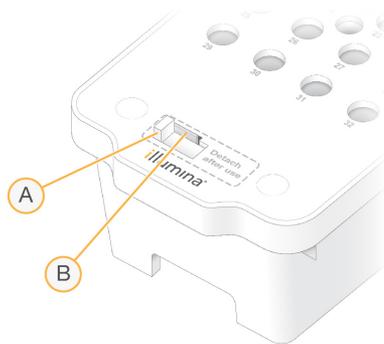
ATTENZIONE

Questo set di reagenti contiene materiali chimici potenzialmente pericolosi. L'inalazione, l'ingestione, il contatto con la pelle o con gli occhi possono causare lesioni personali. Indossare l'attrezzatura protettiva, inclusi protezione per gli occhi, guanti e indumento da laboratorio appropriato per evitare i rischi di esposizione. Manipolare i reagenti usati come rifiuti chimici e smaltirli in base alle leggi e alle regolamentazioni pertinenti a livello regionale, nazionale e locale. Per ulteriori informazioni ambientali, di salute e di sicurezza, consultare le SDS alla pagina Web support.illumina.com/sds.html.

1. Indossando un paio di guanti, spingere la linguetta in plastica bianca etichettata **Detach after use** (Rimuovere dopo l'uso) che si trova sulla destra.
2. Posizionare una mano o una superficie sotto il serbatoio, premere la linguetta in plastica trasparente verso l'etichetta Illumina per rilasciare il serbatoio da sotto la cartuccia con cluster.

NOTA Evitare di sovrapporre le cartucce con cluster durante la conservazione. La sovrapposizione potrebbe causare il distacco accidentale del serbatoio.

Figura 21 Posizione rimovibile n. 30



- A. Linguetta in plastica bianca per la rimozione
- B. Linguetta in plastica trasparente per il rilascio

3. Smaltire il serbatoio in base agli standard applicabili.

Output del sequenziamento

Durante il sequenziamento, i dati vengono trasferiti automaticamente da Strumento NovaSeq 6000Dx a DRAGEN Server. Quando l'analisi primaria è terminata e il trasferimento dei dati è completo, l'analisi secondaria su DRAGEN Server può iniziare automaticamente utilizzando le opzioni di analisi definite dall'applicazione selezionata in Illumina Run Manager. I risultati prodotti dipendono dalle opzioni scelte durante l'impostazione della corsa. Per visualizzare i risultati di una corsa, selezionare il nome della corsa desiderata nella scheda Completed (Completata) della schermata Runs (Corse). I file di output si trovano anche nella posizione specificata nella schermata Instrument Settings (Impostazioni strumento).

Analisi in tempo reale

Strumento NovaSeq 6000Dx utilizza RTA3, un'implementazione del software Analisi in tempo reale, sul Compute Engine (CE) dello strumento. RTA3 estrae le intensità dalle immagini ricevute dalla fotocamera, esegue l'identificazione delle basi, assegna un punteggio di qualità all'identificazione delle basi, si allinea a PhiX e riporta i dati in file InterOp.

Per ottimizzare il tempo di elaborazione, RTA3 archivia le informazioni in memoria. Se RTA3 viene terminato, l'elaborazione non riprende e tutti i dati della corsa elaborata archiviati in memoria vengono persi.

Input RTA3

RTA3 richiede immagini di tile contenute nella memoria locale del sistema per l'elaborazione. RTA3 riceve informazioni e comandi di esecuzione da NVOS.

Output RTA3

Le immagini per ciascun canale colore sono passate in memoria a RTA3 come tile. In base a queste immagini, RTA3 produce output sotto forma di un set di file di identificazione delle basi qualitativamente valutate e di file filtro. Tutti gli altri output sono file di output di supporto.

Tipo di file	Descrizione
File di identificazione delle basi	Ciascuna tile analizzata viene inclusa in un file di identificazione delle basi concatenato (*.cbcl). Le tile appartenenti alla stessa corsia e superficie sono aggregate in un CBCL per ciascuna corsia e superficie.
File filtro	Ciascuna tile produce un file filtro (*.filter) che specifica se un cluster ha attraversato il filtro.

RTA3 fornisce metriche in tempo reale della qualità della corsa sotto forma di file InterOp, ossia output binari che contengono metriche su tile, ciclo e a livello di lettura.

Gestione degli errori

RTA3 crea file di registro e li scrive nella cartella Logs (Registri). Gli errori vengono registrati in un file di testo in formato file *.log.

I seguenti file di registro sono trasferiti alla destinazione di output finale al termine dell'elaborazione:

- `info_00000.log` riassume importanti eventi di una corsa.
- `error_00000.log` elenca gli errori che si sono verificati durante una corsa.
- `warning_00000.log` elenca le avvertenze che si sono verificate durante una corsa.

Tile della cella a flusso

Le tile sono piccole aree di imaging sulla cella a flusso. La videocamera acquisisce una singola immagine di ciascuna striscia, che il software divide in tile per l'elaborazione di RTA3. Il numero totale di tile dipende da quante corsie, strisce e superfici sono state sottoposte a imaging sulla cella a flusso.

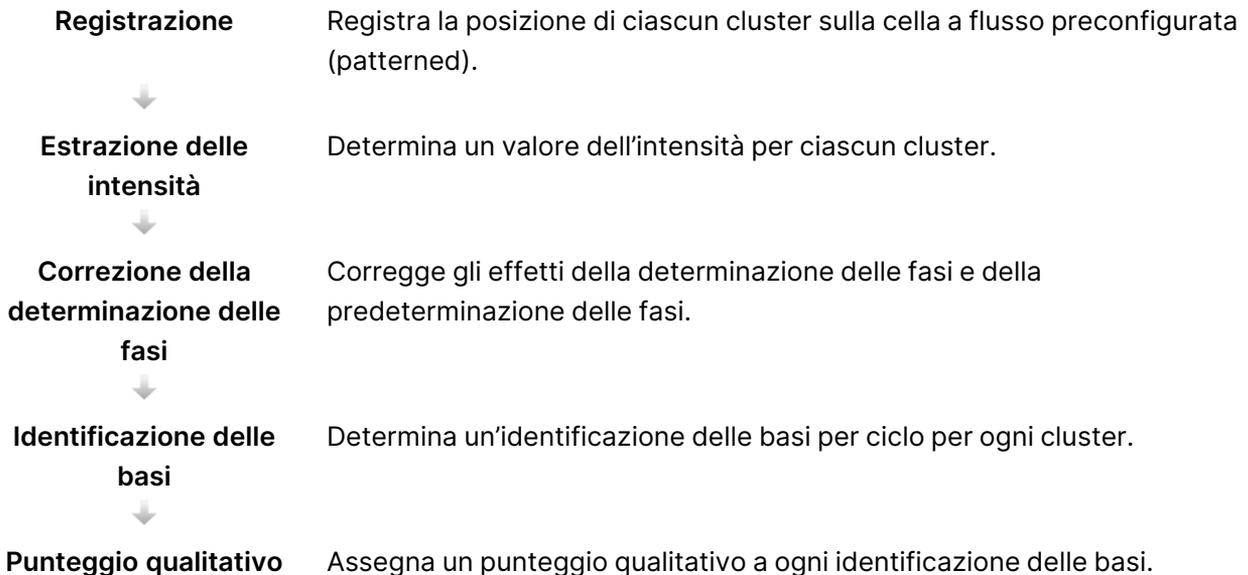
- Le celle a flusso S2 dispongono di 1.408 tile.
- Le celle a flusso S4 dispongono di 3.744 tile.

Componente della cella a flusso	S2	S4	Descrizione
Corsie	2	4	Una corsia è un canale fisico con porte di ingresso e di uscita.
Superfici	2	2	Le celle a flusso S2 e S4 sono sottoposte a imaging su due superfici: la superficie superiore e la superficie inferiore. La superficie superiore di una tile viene sottoposta a imaging per prima.
Strisce per corsia	4	6	Una striscia è una colonna in una corsia della cella a flusso che la videocamera cattura come un'immagine scansionata.
Tile per striscia	88	78	Una tile è una porzione di una striscia e rappresenta un'area sottoposta a imaging sulla cella a flusso.
Tile totali generate	1.408	3.744	Corsie × superfici × strisce × tile per striscia equivalgono al numero totale di tile.

Il nome della tile è un numero di cinque cifre che rappresenta la posizione sulla cella a flusso. Ad esempio, il nome della tile 1_1205 indica corsia numero 1, superficie superiore, striscia numero 2, tile numero 5.

- La prima cifra rappresenta il numero della corsia:
 - 1 o 2 per una cella a flusso S2.
 - 1, 2, 3 o 4 per una cella a flusso S4.
- La seconda cifra rappresenta la superficie: 1 per superficie superiore e 2 per superficie inferiore.
- La terza cifra rappresenta il numero di striscia:
 - 1, 2, 3 o 4 per una cella a flusso S2.
 - 1, 2, 3, 4, 5 o 6 per una cella a flusso S4.
- Le ultime due cifre rappresentano il numero della tile. La numerazione inizia da 01 sul lato di uscita della cella a flusso, proseguendo fino a 88 o 78 sul lato di presa.
 - Da 01 a 88 per una cella a flusso S2.
 - Da 01 a 78 per una cella a flusso S4.

Flusso di lavoro di Real-Time Analysis



Registrazione

La registrazione allinea un'immagine su un array quadrato ruotato di nanopozzetti su una cella a flusso preconfigurata (patterned). Grazie alle posizioni ordinate dei nanopozzetti, le coordinate X e Y per ogni cluster in una tile sono predeterminate. Le posizioni dei cluster sono scritte su un file di posizioni cluster (s.locs) per ogni corsia.

Se la registrazione non riesce per una qualsiasi immagine in un ciclo, non viene generata alcuna identificazione delle basi per quella tile in quel ciclo.

Estrazione delle intensità

Dopo la registrazione, l'estrazione delle intensità calcola il valore dell'intensità per ogni nanopozzetto in una data immagine. Se la registrazione non riesce, l'intensità per quella tile non può essere estratta.

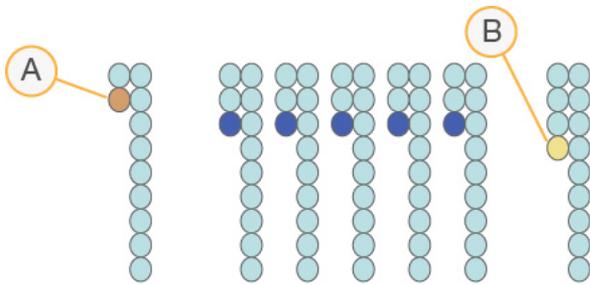
Correzione della determinazione delle fasi

Durante la reazione di sequenziamento, ciascun filamento di DNA in un cluster si estende di una base per ciclo. La determinazione delle fasi e la predeterminazione delle fasi si verificano quando un filamento fuoriesce dalla fase con il ciclo di incorporazione attuale.

La determinazione delle fasi si verifica quando l'incorporazione di una base rimane indietro.

La predeterminazione delle fasi si verifica quando l'incorporazione una base salta in avanti.

Figura 22 Determinazione delle fasi e predeterminazione delle fasi



- A. Lettura con una base nella determinazione delle fasi
- B. Lettura con una base nella predeterminazione delle fasi

RTA3 corregge gli effetti della determinazione delle fasi e della predeterminazione delle fasi che massimizza la qualità dei dati a ogni ciclo per tutta la corsa.

Identificazione delle basi

L'identificazione delle basi determina una base (A, C, G o T) per ogni cluster di una data tile a un ciclo specifico. Strumento NovaSeq 6000Dx utilizza il sequenziamento a due canali, che richiede solo due immagini per codificare i dati per quattro basi di DNA, un'immagine dal canale verde e una dal canale rosso.

Una mancata identificazione viene indicata con una N. Le mancate identificazioni si verificano quando un cluster non attraversa il filtro, non viene eseguita la registrazione o un cluster si è spostato al di fuori dell'immagine.

Le intensità di ciascun cluster sono estratte dalle immagini del canale rosso e del canale verde e sono confrontate tra di loro fornendo quattro popolazioni distinte. Ogni popolazione corrisponde a una base. Il processo di identificazione delle basi determina a quale popolazione appartiene ciascun cluster.

Figura 23 Visualizzazione delle intensità dei cluster

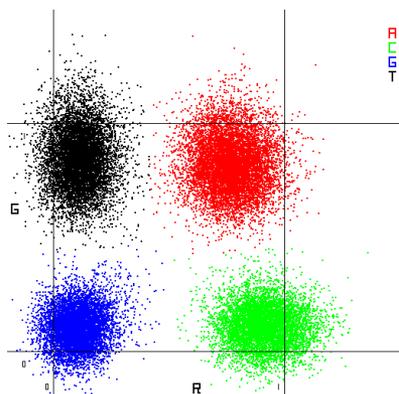


Tabella 19 Identificazione delle basi nel sequenziamento a due canali

Base	Canale rosso	Canale verde	Risultato
A	1 (on)	1 (on)	Cluster che mostrano intensità sia nel canale rosso che nel canale verde.
C	1 (on)	0 (off)	Cluster che mostrano intensità solo nel canale rosso.
G	0 (off)	0 (off)	I cluster che non mostrano intensità a una posizione cluster nota.
T	0 (off)	1 (on)	Cluster che mostrano intensità solo nel canale verde.

Cluster che attraversano il filtro

Durante la corsa, RTA3 filtra i dati non elaborati e rimuove le letture che non soddisfano la soglia per la qualità dei dati. I cluster sovrapposti o di bassa qualità vengono rimossi.

Per l'analisi a due canali, RTA3 utilizza un sistema basato sulla popolazione per determinare il valore chastity (misurazione della purezza dell'intensità) di un'identificazione delle basi. I cluster attraversano il filtro (PF) quando non più di un'identificazione delle basi nei primi 25 cicli presenta un valore chastity inferiore alla soglia fissata. Quando incluso, l'allineamento PhiX viene eseguito al ciclo 26 su un sottogruppo di tile per i cluster che hanno attraversato il filtro. I cluster che non attraversano il filtro non sono identificati come basi e non vengono allineati.

Punteggi qualitativi

Un punteggio qualitativo (Q-score) è una previsione della probabilità di un'identificazione delle basi errata. Un punteggio qualitativo superiore implica che un'identificazione delle basi presenta una qualità superiore ed è più probabile che sia corretta. Dopo la determinazione del punteggio qualitativo, i risultati

sono registrati nei file CBCL.

Il punteggio qualitativo fornisce in modo succinto le probabilità di piccoli errori. I punteggi qualitativi sono rappresentati come $Q(X)$, dove X è il punteggio. La tabella seguente illustra la relazione fra un punteggio qualitativo e la probabilità di errore.

Punteggio qualitativo $Q(X)$	Probabilità di errore
Q40	0,0001 (1 su 10.000)
Q30	0,001 (1 su 1.000)
Q20	0,01 (1 su 100)
Q10	0,1 (1 su 10)

Punteggio qualitativo e report

Il punteggio qualitativo calcola un set valori per ciascuna identificazione delle basi, quindi utilizza questi valori per individuare il punteggio qualitativo in una tabella qualitativa. Le tabelle qualitative sono create per fornire previsioni di qualità accurate e ottimali per le corse generate da una specifica configurazione di una piattaforma di sequenziamento e versione della chimica.

Il punteggio qualitativo si basa su una versione modificata dell'algoritmo Phred.

Per generare la tabella Q per Strumento NovaSeq 6000Dx, vengono identificati tre gruppi di identificazioni delle basi, in base ai cluster di queste specifiche caratteristiche predittive. Dopo il raggruppamento delle identificazioni delle basi, la percentuale di errore media è stata calcolata empiricamente per ognuno di questi tre gruppi e i corrispondenti punteggi qualitativi sono stati registrati nella tabella Q assieme alle caratteristiche predittive relative a quel gruppo. In questo modo, con RTA3 sono possibili solo tre punteggi qualitativi e questi punteggi qualitativi rappresentano la percentuale di errore media del gruppo. Nel complesso, questo risultato è semplificato, sebbene il punteggio qualitativo sia altamente accurato. I tre gruppi nella tabella di qualità corrispondono alle identificazioni delle basi marginali (inferiore a Q15), medie (circa Q20) e di elevata qualità (superiore a Q30) e vengono assegnati punteggi specifici di 12, 26 e 34 rispettivamente. Inoltre, un punteggio nullo di 2 viene assegnato a ogni identificazione non riuscita. Questo modello per riportare i punteggi qualitativi riduce lo spazio di archiviazione e i requisiti di ampiezza di banda senza incidere sull'accuratezza o sulle prestazioni.

Figura 24 Punteggio qualitativo semplificato con RTA3



File di output per il sequenziamento

Tipo di file	Descrizione, posizione e nome del file
File di identificazione delle basi	<p>Ciascun cluster analizzato viene incluso in un file delle identificazione delle basi, aggregato in un file per ciclo, corsia e superficie. Il file aggregato contiene l'identificazione delle basi e il punteggio qualitativo codificato per ogni cluster.</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, per esempio L001_1.cbcl</p>
File posizione cluster	<p>Per ciascuna cella a flusso, un file binario della posizione dei cluster contiene le coordinate XY per i cluster in una tile. Un layout esagonale che corrisponde al layout dei nanopozzetti della cella a flusso predefinisce le coordinate.</p> <p>Data\Intensities s_[lane].locs</p>
File filtro	<p>I file filtro specificano se un cluster ha attraversato i filtri. I file filtro sono generati al ciclo 26 utilizzando 25 cicli di dati. Per ogni tile, viene generato un file filtro.</p> <p>Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane]_[tile].filter</p>
File informazioni corsa	<p>Elenca il nome della corsa, il numero di cicli in ciascuna lettura, se la lettura è un Index Read (Lettura Indici) e il numero di strisce e tile sulla cella a flusso. Il file informazioni corsa viene creato all'inizio della corsa.</p> <p>[Root folder],RunInfo.xml</p>

Tipo di file	Descrizione, posizione e nome del file
File immagini in miniatura	Immagini in miniatura per il primo ciclo di ciascuna lettura di sequenziamento. Thumbnail_Images\L001\C[X.1]: i file sono conservati in una sottocartella per ciascun ciclo. s_[lane]_[tile]_[channel].jpg: l'immagine in miniatura include il numero della tile.

Struttura della cartella di output del sequenziamento

NVOS genera automaticamente il nome della cartella di output.

 **Config** (Configurazione): le impostazioni di configurazione per la corsa.

 **Logs** (Registri): i file di registro che descrivono le fasi operative, l'analisi dello strumento e gli eventi di RTA3.

 SampleSheet.csv: il foglio campioni o altri file allegati, se applicabile.

 **Data** (Dati)

 **Intensities** (Intensities)

 **BaseCalls**

 **L00[X]**: i file di identificazione delle basi (*.cbcl) aggregati in un file per corsia, superficie e ciclo.

 s.locs: il file delle posizioni dei cluster per la corsa.

 **InterOp**: file binari.

 **Recipe** (Ricetta): il file della ricetta specifico per la corsa.

 **Thumbnail Images** (Miniature): le immagini in miniatura ogni decima tile.

 **LIMS**: il file di impostazione della corsa (*.json), se applicabile.

 **Audit** (Ispezione)

 AuditInfo.xml

 RTA3.cfg

 RunInfo.xml

 RunParameters.xml

 RTAComplete.txt

 CopyComplete.txt

 SequenceComplete.txt

 IlluminaRunManagerCopyComplete.txt

 Manifest.tsv

Manutenzione e risoluzione dei problemi

In queste sezioni sono descritte le procedure di manutenzione e di risoluzione dei problemi per NovaSeq 6000Dx.

Per domande tecniche, visitare la [pagina Strumento NovaSeq 6000Dx](#) sul sito di supporto Illumina. La pagina di supporto fornisce l'accesso alla documentazione, ai download e alle domande frequenti. Per accedere ai bollettini di supporto, accedere al proprio account MyIllumina.

Per problemi relativi alla qualità della corsa o alle prestazioni, contattare l'Assistenza tecnica Illumina.

Manutenzione preventiva

Illumina raccomanda di programmare un servizio di manutenzione preventiva ogni anno. Se non si dispone di un contratto di assistenza, contattare il responsabile di zona o l'Assistenza tecnica Illumina per organizzare un servizio di manutenzione preventiva a pagamento.

V2 Lavaggio di manutenzione

Il software suggerisce un lavaggio di manutenzione nei seguenti momenti:

- Quando non è stato eseguito un lavaggio post-corsa negli ultimi 14 giorni.
- Quando un lavaggio post-corsa è fallito o è incompleto.

Il lavaggio di manutenzione lava il sistema con diluizione di Tween 20 e NaOCl fornite dall'utente. Le diluizioni vengono pompate dalle cartucce di lavaggio alla cella a flusso, ai flaconi di reagenti usati e ad ogni serbatoio della cartuccia per lavare tutti i pettini di aspirazione. La durata del lavaggio è di circa 120 minuti.

Un lavaggio di manutenzione richiede una cartuccia di tamponi usata e i seguenti elementi, forniti con lo strumento:

- Cartuccia di lavaggio SBS
- Cartuccia di lavaggio con cluster
- Cella a flusso di lavaggio a quattro corsie

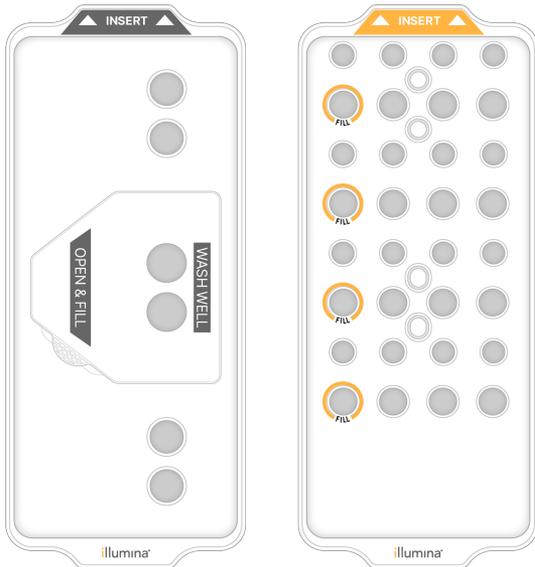
Analogamente alle cartucce di reagente, le cartucce di lavaggio sono codificate in base al colore per evitare errori di caricamento. La cartuccia di lavaggio SBS presenta un pozzetto centrale per la diluizione di Tween 20. La diluizione di NaOCl viene aggiunta a quattro serbatoi sulla cartuccia di lavaggio con cluster.



ATTENZIONE

Se i flaconi di reagenti usati non vengono svuotati si potrebbe verificare un lavaggio terminato e una fuoriuscita, che potrebbe danneggiare lo strumento e porre un rischio di sicurezza.

Figura 25 Cartuccia di lavaggio SBS (sinistra) e cartuccia di lavaggio con cluster V2 (destra)



Preparazione della soluzione di lavaggio

1. Dispensare 400 ml di acqua da laboratorio in un flacone per centrifuga da 500 ml.
2. Dispensare 0,2 ml di Tween 20 al 100% per ottenere una soluzione di lavaggio di almeno 400 ml di Tween 20 allo 0,05%.

L'utilizzo di una diluizione di Tween 20 appena preparata limita l'introduzione di contaminanti nel sistema di fluidica.

3. Capovolgere per miscelare.
4. Rimuovere il coperchio dal pozzetto centrale della cartuccia di lavaggio SBS.

5. Aggiungere la soluzione di lavaggio nel pozzetto centrale. Riempire fino alla linea di riempimento, che indica il volume minimo richiesto.
Gli altri serbatoi rimangono vuoti.

Figura 26 Centraggio del pozzetto riempito fino alla linea di riempimento



6. In una provetta da centrifuga da 50 ml, combinare i seguenti volumi per preparare 40 ml di NaOCl di grado reagente allo 0,12%:
 - NaOCl di grado reagente al 5% (1 ml)
 - Acqua deionizzata (39 ml)

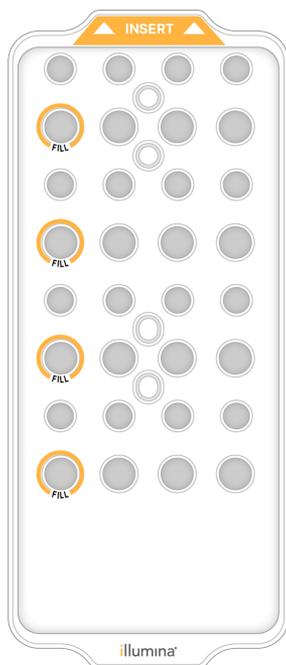


ATTENZIONE

Utilizzare solo NaOCl di grado reagente. Evitare prodotti con candeggina per uso generico in quando possono contenere composti di ammoniaca che potrebbero causare corse con una bassa percentuale di letture che attraversano il filtro.

7. Capovolgere per miscelare.
8. Aggiungere 4 ml di NaOCl di grado reagente allo 0,12% alle posizioni contrassegnate della cartuccia di lavaggio con cluster V2.
Le ubicazioni sono contrassegnate da Fill (Riempimento) e cerchiato in arancione. Tutti gli altri serbatoi rimangono vuoti.

Figura 27 Posizioni di NaOCl allo 0,12%



Caricamento della cella a flusso di lavaggio

1. Rimuovere qualsiasi oggetto dalla superficie dello strumento.
Mantenere la superficie libera durante il lavaggio di manutenzione ed evitare di appoggiarsi allo strumento.
2. Dal menu principale, selezionare **Sequencing** (Sequenziamento), selezionare **Wash** (Lavaggio), quindi selezionare il lato da lavare:
 - **A+B**: lava entrambi i lati simultaneamente.
 - **A**: lava solo il lato A.
 - **B**: lava solo il lato B.

L'avvio scaglionato dei lavaggi di manutenzione non è supportato. Il software avvia la serie di schermate relative al lavaggio.

È possibile avviare un lavaggio di manutenzione per un solo lato quando l'altro lato è inattivo o sta eseguendo cicli di lettura SBS. Il tempo di avvio scaglionato di NVOS indica la disponibilità dello strumento per l'avvio di una nuova corsa o di un lavaggio. Per ulteriori informazioni, consultare la sezione [Avvio di corse scaglionate alla pagina 58](#).

3. Selezionare **OK** per accettare l'avvertenza e aprire lo sportello della cella a flusso.
4. Caricare una cella a flusso di lavaggio.
5. Selezionare **Close Flow Cell Door** (Chiudi lo sportello della cella a flusso).

Lo sportello si chiude, i sensori e l'identificazione RFID vengono verificati e l'ID della cella a flusso appare sullo schermo.

Caricamento delle cartucce di lavaggio

Un lavaggio di manutenzione richiede cartucce di lavaggio. Non utilizzare le cartucce SBS e con cluster usate.

1. Aprire gli sportelli dello scomparto dei liquidi, quindi aprire lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.
2. Rimuovere le cartucce di reagenti con cluster e SBS usate. Smaltire i contenuti non utilizzati in base agli standard vigenti nella propria regione.
Per il corretto smaltimento della posizione n. 30 della cartuccia con cluster, vedere [Posizione rimovibile n. 30](#).
3. Caricare le cartucce di lavaggio nel cassetto del vano refrigerato per i reagenti come segue, in modo che le etichette **Insert** (Inserisci) siano rivolte verso la parte posteriore dello strumento:
 - Posizionare la cartuccia SBS (etichetta grigia) nella posizione sinistra.
 - Posizionare la cartuccia di lavaggio con cluster V2 (etichetta arancione) nella posizione destra.
4. Fare scorrere il cassetto nel vano refrigerato per i reagenti, quindi chiudere lo sportello del vano refrigerato.
I sensori vengono verificati e i RFID per ciascuna cartuccia vengono scansionati e visualizzati sulla schermata.
5. Aprire il cassetto dei tamponi.
6. Se non è già presente, caricare una cartuccia di tamponi usata.

Svuotamento dei flaconi di reagenti usati

Utilizzare le seguenti istruzioni per svuotare i flaconi di reagenti usati con *ogni* corsa di sequenziamento. Se il sistema è configurato per far defluire i reagenti usati all'esterno, il flacone piccolo raccoglie i reagenti usati e deve essere svuotato per ogni corsa di sequenziamento. Il flacone grande deve rimanere in posizione.

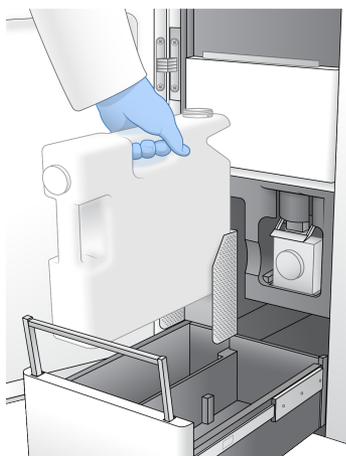


ATTENZIONE

Questo set di reagenti contiene materiali chimici potenzialmente pericolosi. L'inalazione, l'ingestione, il contatto con la pelle o con gli occhi possono causare lesioni personali. Indossare l'attrezzatura protettiva, inclusi protezione per gli occhi, guanti e indumento da laboratorio appropriato per evitare i rischi di esposizione. Manipolare i reagenti usati come rifiuti chimici e smaltirli in base alle leggi e alle regolamentazioni pertinenti a livello regionale, nazionale e locale. Per ulteriori informazioni ambientali, di salute e di sicurezza, consultare le SDS alla pagina Web support.illumina.com/sds.html.

7. Rimuovere e svuotare il flacone piccolo dei reagenti usati nel modo seguente.
 - a. Sollevare la leva e rimuovere il flacone piccolo dei reagenti usati dall'alloggiamento. Afferrare il flacone da entrambi i lati.
 - b. Rimuovere il tappo filettato dal supporto dei tappi nella parte anteriore del flacone.
 - c. Sigillare l'apertura del flacone con un tappo per impedire le fuoriuscite.
 - d. Mantenendo i contenuti separati dai contenuti di altri flaconi, smaltire in base agli standard applicabili nella propria regione.
 - e. Rimettere il flacone senza tappo nell'alloggiamento, quindi abbassare la leva. Conservare il tappo sul supporto dei tappi.
8. Rimuovere e svuotare il flacone grande dei reagenti usati nel modo seguente.
 - a. Utilizzando l'impugnatura superiore, rimuovere il flacone grande dei reagenti usati dal lato sinistro del cassetto dei tamponi.
 - b. Rimuovere il tappo filettato dal supporto dei tappi nella parte anteriore del flacone.
 - c. Sigillare l'apertura del flacone con un tappo per impedire le fuoriuscite.
 - d. Smaltire i contenuti in base agli standard applicabili nella propria regione. Tenere saldamente le impugnature durante lo svuotamento.
 - e. Rimettere il flacone senza tappo nel cassetto dei tamponi. Conservare il tappo sul supporto dei tappi.

Figura 28 Riposizionamento del flacone vuoto nel suo alloggiamento



9. Indossare un nuovo paio di guanti privi di polvere.
10. Chiudere il cassetto dei tamponi, quindi chiudere gli sportelli dello scomparto dei liquidi.



ATTENZIONE

Se i flaconi di reagenti usati non vengono svuotati si potrebbe verificare una corsa terminata e una fuoriuscita, che potrebbe danneggiare lo strumento e porre un rischio di sicurezza.

Avvio del lavaggio

1. Selezionare la casella di spunta per confermare che entrambi i flaconi di reagenti usati sono vuoti, quindi selezionare **Start Wash** (Avvia lavaggio).

Il lavaggio si avvia e viene visualizzato il tempo stimato per il completamento del lavaggio.



ATTENZIONE

Se i flaconi di reagenti usati non vengono svuotati si potrebbe verificare un lavaggio terminato e una fuoriuscita, che potrebbe danneggiare lo strumento e porre un rischio di sicurezza.

2. Al termine del lavaggio, selezionare **Home** (Inizio).
3. Lasciare i materiali di consumo in posizione fino alla corsa successiva.
I pescanti rimangono nelle cartucce SBS e con cluster per impedire che l'aria entri nel sistema. I pescanti nella cartuccia di tamponi vengono sollevati in modo che i flaconi di reagenti usati possano essere svuotati. Prima del successivo lavaggio di manutenzione, smaltire il liquido di lavaggio rimasto nella cartuccia di lavaggio e sciacquare il serbatoio con acqua pulita. Lasciare asciugare completamente le cartucce tra un utilizzo e l'altro.

Risoluzione dei problemi

Per domande tecniche, visitare la [pagina Strumento NovaSeq 6000Dx](#) sul sito di supporto Illumina. Il sito di supporto fornisce l'accesso alla documentazione, ai download e alle domande frequenti. Per accedere ai bollettini di supporto, accedere al proprio account MyIllumina.

Per problemi relativi alla qualità della corsa o alle prestazioni, contattare l'Assistenza tecnica Illumina.

Terminazione di una corsa

Quando si termina una corsa sul sistema NovaSeq 6000Dx questo passaggio è *definitivo*. Il software non può riprendere la corsa o salvare i dati del sequenziamento e i materiali di consumo non possono essere riutilizzati.

1. Selezionare **End** (Termina), quindi selezionare **Yes** (Sì) per confermare il comando.
Se la corsa è stata terminata dopo la Read 1 (Lettura 1), il software avvia un lavaggio post-corsa automatico.
2. Se suggerito dal software, selezionare una delle seguenti opzioni di lavaggio:
 - **End Run Without Wash** (Termina corsa senza lavaggio): termina la corsa e avvia un lavaggio di manutenzione.
 - **End Run and Wash** (Termina corsa ed esegui lavaggio): termina la corsa ed esegue un lavaggio post-corsa automatico.
 - **Cancel** (Annulla): prosegue la corsa attuale.

Se la corsa è stata terminata tra il completamento della generazione dei cluster e il completamento di Read 1 (Lettura 1), il software mostra le opzioni di lavaggio. In caso contrario, il software avvia un lavaggio post-corsa automatico.

- Se è stato selezionato End Run Without Wash (Termina corsa senza lavaggio), attenersi ai suggerimenti del software per impostare un lavaggio di manutenzione.

Vassoio delle perdite

Alla base dello strumento si trova un vassoio delle perdite per raccogliere i reagenti o il refrigerante che gocciola e raccogliere le fuoriuscite dai flaconi di reagenti usati. In condizioni normali, il vassoio delle perdite è asciutto. Una perdita indica che si è verificato un problema con lo strumento e una fuoriuscita si verifica quando i flaconi di reagenti usati non vengono svuotati regolarmente.

Durante le verifiche precorsa, i sensori rilevano se il vassoio delle perdite contiene eventuale liquido:

- Se il vassoio delle perdite contiene liquido ma non è pieno, la corsa può proseguire ma è necessario contattare l'Assistenza tecnica Illumina.
- Se il vassoio delle perdite è pieno, la corsa non può proseguire ed è necessario contattare l'Assistenza tecnica Illumina.



ATTENZIONE

Svuotare i flaconi di reagenti usati con *ogni corsa*. Le corse vengono arrestate quando uno dei flaconi dei reagenti usati è pieno. Una fuoriuscita da uno dei flaconi dei reagenti usati danneggia lo strumento, richiede una visita presso la sede di un rappresentante Illumina e pone rischi di sicurezza.

Risoluzione dei problemi dalla schermata Process Management (Gestione processo)

La tabella seguente fornisce opzioni di risoluzione dei problemi per icona N/A (Non applicabile) sulla schermata Process Management (Gestione processo). La posizione dell'icona dipende dalla configurazione della corsa.

- L'icona N/A viene visualizzata nella colonna BaseSpace Sequence Hub quando la corsa è configurata per il caricamento su BaseSpace Sequence Hub.
- L'icona N/A viene visualizzata nella colonna Network (Rete) quando la corsa è configurata per il caricamento su una cartella di output sulla rete.

Stato della corsa	Azione per la risoluzione dei problemi
Una corsa è in fase di elaborazione	Chiudere la schermata Process Management (Gestione processo), attendere circa cinque minuti, quindi riaprire la schermata.
Una corsa non è in fase di elaborazione	Spegnere e riaccendere lo strumento, quindi riaprire la schermata Process Management (Gestione processo).

Se, dopo aver eseguito l'azione per la risoluzione dei problemi, l'icona N/A (Non applicabile) è ancora visualizzata, contattare l'Assistenza tecnica Illumina.

Errori della verifica pre-corsa

Se si verifica un errore durante le verifiche pre-corsa, utilizzare le azioni seguenti per risolvere l'errore. Se si sta impostando una corsa con doppia cella a flusso e un lato non riesce, è possibile cancellare il lato non riuscito e procedere con il lato che ha superato la verifica.

Quando una verifica pre-corsa non riesce, i RFID per la cella a flusso, i reagenti e i tamponi non sono bloccati. In questo modo è possibile utilizzare i materiali di consumo per una corsa successiva. Quando una corsa è avviata, i pescanti forano i sigilli sulle cartucce di reagenti e tutti i RFID sono bloccati.

Verifica del sistema	Motivo della mancata riuscita	Intervento raccomandato
Sensori	Uno sportello dello scomparto è aperto, un materiale di consumo non è stato caricato correttamente o almeno un sensore non funziona.	Selezionare Retry (Riprova) e attenersi alle indicazioni sullo schermo per risolvere l'errore.
Spazio su disco	Lo spazio su disco non è sufficiente poiché la posizione indicata della cartella di output è piena.	Utilizzare la schermata Process Management (Gestione processo) per liberare spazio su disco dalla cartella di output specificata.
Connettività del sistema	La connessione a RTA3, il sistema di fluidica o altre connessioni sono state interrotte.	Selezionare Retry (Riprova) e attenersi alle indicazioni sullo schermo per risolvere l'errore.
Allineamento	La posizione della cella a flusso impedisce l'imaging.	Attendersi alle indicazioni sullo schermo per ricaricare la cella a flusso.

Riavviare, spegnere o spegnere e riavviare lo strumento

È possibile riavviare, spegnere o spegnere e riavviare NovaSeq 6000Dx solo quando lo strumento è inattivo. Se il sequenziamento o l'analisi sono in corso, viene visualizzato un avviso e non è possibile procedere.

- **Reboot** (Riavvia): riavvia lo strumento senza spegnerlo completamente.
 - Per riavviare lo strumento, selezionare **Reboot** (Riavvia) dal menu Settings (Impostazioni) dello strumento.

- **Shut Down** (Spegni): quando lo strumento viene spento in sicurezza, vengono spenti tutti i software e si spegne l'alimentazione. La barra di stato passa da verde a bianca, indicando che è in corso lo spegnimento. In circostanze normali, non è necessario spegnere lo strumento.
 - Per spegnere lo strumento, selezionare **Shut Down** (Spegni) dal menu Settings (Impostazioni) dello strumento o tramite browser.
- **Power Cycle** (Spegni e riavvia): spegne e riavvia completamente lo strumento. Deve essere eseguito ogni qualvolta si verifica un'interruzione del software.
 - Per spegnere e riavviare lo strumento, selezionare **Power Cycle** (Spegni e riavvia) dal menu Impostazioni dello strumento.

Riprendere l'analisi senza modifiche

Se non vengono apportate modifiche alle impostazioni della corsa, viene creata una nuova corsa dalla corsa originale e viene avviata la rianalisi.

1. Dalla pagina dei risultati della corsa, selezionare **Requeue Analysis** (Riprendi analisi). Si apre la finestra Requeue Analysis (Riprendi analisi).
2. Selezionare l'opzione per riprendere senza modifiche e fornire un motivo per la ripresa nel campo Reason (Motivo).
3. La nuova corsa appare nella scheda Active Runs (Corse attive).

Riprendere e modificare le impostazioni

1. Dalla pagina dei risultati della corsa, selezionare **Requeue Analysis** (Riprendi analisi).
2. Nella finestra Requeue Analysis (Riprendi analisi), selezionare l'opzione per modificare le impostazioni della corsa e riprendere l'analisi. Indicare il motivo della richiesta nel campo Reason (Motivo).
3. Modificare la descrizione della corsa e selezionare **Next** (Avanti).
4. Modificare i campioni o importare un nuovo foglio di campioni e selezionare **Next** (Avanti).
5. Modificare le impostazioni di analisi come desiderato e selezionare **Requeue** (Riprendi). I risultati della corsa originale vengono aggiornati con un link alla corsa ripresa.

Mancata riuscita di una corsa prima della generazione di cluster

Se il software non porta a termine la corsa prima dell'avvio della generazione di cluster, è possibile salvare le cartucce di reagenti e la provetta delle librerie (incluso il campione) per una nuova corsa. Se viene riutilizzata immediatamente, è possibile salvare anche la cella a flusso. All'avvio della generazione di cluster, i pescanti forano i sigilli e i reagenti vengono trasferiti nella provetta delle librerie e nella cella a flusso, in modo che i materiali di consumo e le librerie non possano essere utilizzati per un'altra corsa.

È possibile utilizzare una delle seguenti opzioni per impostare una nuova corsa utilizzando le cartucce di reagenti, la provetta delle librerie e la cella a flusso salvata da una corsa non riuscita:

- **Set up a new run immediately** (Impostazione immediata di una nuova corsa): impostare la nuova corsa entro quattro ore dalla corsa non riuscita. Le cartucce di reagenti, la provetta delle librerie e la cella a flusso rimangono caricate.
- **Set up a new run later** (Impostazione successiva di una nuova corsa): impostare la nuova corsa entro quattro ore dalla corsa non riuscita. Le cartucce di reagente vengono scaricate dallo strumento e conservate. I materiali di consumo salvati devono essere etichettati con la data e conservati nelle condizioni originali. La cella a flusso non può essere riutilizzata e deve essere smaltita.

Impostazione di una nuova corsa da eseguire immediatamente

1. Quando la corsa fallisce e l'altro lato dello strumento è inattivo, riavviare lo strumento. In caso contrario, selezionare **Home** (Inizio).
2. Impostare una nuova corsa.
3. Lasciare l'attuale cella a flusso in posizione.
4. Aprire e chiudere lo sportello del vano refrigerato per i reagenti e il cassetto dei tamponi per suggerire a NVOS di leggere nuovamente i RFID della cartuccia di reagenti.
Le cartucce, la provetta delle librerie e la cella a flusso possono rimanere sullo strumento fino a quattro ore dopo la mancata riuscita della corsa.
5. Svuotare i flaconi di reagenti, se necessario, e rimetterli sullo strumento.
6. Procedere con l'impostazione della corsa.

File di risoluzione dei problemi

File	Cartella	Descrizione
File informazioni corsa (RunInfo.xml)	Cartella della corsa (livello base)	Contiene le informazioni sulla corsa seguenti: <ul style="list-style-type: none"> • Numero di cicli per la corsa • Numero di letture per la corsa • Se la lettura è indicizzata • Numero di strisce e tile sulla cella a flusso
File parametri della corsa (RunParameters.xml)	Cartella della corsa (livello base)	Contiene il nome della corsa e le informazioni sui parametri della corsa e i componenti della corsa, incluse le seguenti informazioni RFID: numeri di serie, numeri di lotto, date di scadenza e numeri di cataloghi.
File InterOp (*.bin)	InterOp	I file InterOp sono aggiornati durante tutta la corsa.

File	Cartella	Descrizione
File di registro	Registri	I file di registro descrivono ciascuna fase eseguita dallo strumento per ciascun ciclo, inclusi i reagenti usati ed elenca le versioni software e firmware usate per la corsa. Il file denominato [InstrumentName]_CurrentHardware.csv elenca i numeri di serie dei componenti dello strumento.

Indice

%

%PF 65

A

aiuto 75
 algoritmo Phred 66
 allineamento non riuscito 77
 applicazione 1
 assistenza clienti 84
 assistenza tecnica 84
 attività post-corsa 59

B

bagno d'acqua 49
 barra con spie 3, 77
 barra di stato 3, 77
 BaseSpace Sequence Hub 1
 bcl2fastq2 61
 bollettini supporto 75

C

canale rosso 64
 canale verde 64
 cartucce di lavaggio 69-70
 cartucce di reagente
 preparazione 49
 cartucce di reagenti
 scaricamento 53
 cartucce lavaggio 73
 cartucce reagente
 etichettatura 28
 cartucce reagenti
 archiviazione 78
 etichettatura 26
 cartuccia tamponi 54, 73

CE 61

cella a flusso di lavaggio 69

celle a flusso

 etichettatura 26

 graffi 52

 pulizia 52

 specifiche 26

celle a flusso a due corsie 26

celle a flusso a quattro corsie 26

celle a flusso preconfigurate (patterned) 1, 26

cicli sequenziamento 57

cluster che attraversano il filtro 56

cluster che attraversano il filtro (PF) 65

colori grafico 56

Compute Engine 61

connettività sistema 77

conservazione cartucce reagenti 78

contaminazione incrociata 5, 59

conversione FASTQ 61

corsa

 metriche 61

corse

 messa in pausa 58

 metriche 56

 ripresa 75

 scaglionate 58

corsie 26, 62

D

determinazione delle fasi e predeterminazione
 delle fasi 64

diagnostica 3

documentazione 84

documenti 66

durata corsa 56

durata generazione di cluster 57

durate

 corsa di sequenziamento 56

 generazione di cluster 57

lavaggio di manutenzione 69
lavaggio post-corsa automatico 59

E

errori
 probabilità 65-66
etichette, componenti kit 26

F

file CBCL 65
file filtro 61, 67
file identificazione basi 61
file identificazione delle basi 67
file InterOp 6, 61, 67
file registro 62
filtraggio cluster 65
filtro chastity 65
fuoriuscita 50, 73, 76

G

generazione della griglia per l'identificazione
 dei cluster 63
graffi, celle a flusso 52
griglie 49
griglie di scongelamento 49
guanti, sostituzione 50, 73
guarnizioni 26, 52
guida, tecnica 84

I

imaging 26, 61-62
immagini 61
immagini in miniatura (thumbnail) 67
intensità cluster 64
ipoclorito di sodio 59, 70

L

lavaggi
 durata 59, 69

frequenza 69
lavaggi di manutenzione
 soluzioni di lavaggio 70
lavaggi manutenzione
 materiali di consumo 69
letture, numero di 26
LIMS 1
linee guida acqua da laboratorio 32

M

manutenzione preventiva 69
manutenzione, preventiva 69
materiali di consumo
 acqua da laboratorio 32
 lavaggi manutenzione 69
 scaricamento 59, 75
messa in pausa delle corse 58
modalità 26
morsetti, cella a flusso 3

N

nanopozzetti 64
NaOCl 59, 70
nessuna identificazione 63-64
nome cartella di output 68
nucleotidi 64
numerazione delle tile 62
numerazione superficie 62
numero di cicli 57

O

ottica 3

P

pagine supporto 75
perdite 76
PhiX
 allineamento 61
piano portacelle 3, 52
pipette 31

- porte USB 3
- posizione n. 30 59, 73
- posizioni cluster 61, 67
- posizioni pescanti 59, 75
- primer personalizzati 29
- problemi alla fluidica 76
- provette libreria 78
 - conservazione nella cartuccia 79
- provette librerie 29
- punteggi qualitativi 65
- punteggio qualitativo 66

Q

- Q-scores (Punteggi qualitativi) 56
- qualificazione dati 65

R

- Read 1 (Lettura 1) 75
- reagenti usati 4, 50, 53, 73
- Real-Time Analysis 1, 6
- registrazione non riuscita 63
- registro errori 62
- resa 56
- RFID 77
- riavvio dopo spegnimento 77
- riposizionamento dello strumento 77
- ripresa corse 75
- RunInfo.xml 67

S

- scaricamento cartucce di reagenti 53
- scheda dati sicurezza 5
- schermata Sequencing (Sequenziamento) 56
- scompari 3
- scomparto dei liquidi 28
- scomparto tamponi 54
- sensori 3, 77
- Sequencing Analysis Viewer 61, 63
- sequenziamento a due canali 64
- sistema di fluidica 5

- sistema fluidica 70
- sito web, supporto 75
- smaltimento formammide 59
- smaltimento reagenti usati 5
- software di controllo 6
- Software Suite 6
- soluzione lavaggio 28
- sostanze chimiche pericolose 5
- spazio su disco 77
- specifiche 26
- specifiche congelatore 31
- specifiche frigorifero 31
- spegnimento 77
- spostamento degli strumenti 77
- stazione di attacco 52
- stazione di attacco NovaSeq Xp 52
- strisce 26, 62
- supporti cappucci 50, 73

T

- tabelle qualitative 66
- target allineamento ottico 3, 52
- tile 26, 61
- tracciatura dei campioni 29
- Tween 20 70

U

- Universal Copy Service 6

V

- valori intensità 64
- vano portacella 52
- vano refrigerato 4
- vano refrigerato per i reagenti 4
- vassoio raccogli gocce 76
- verifiche automatiche 77
- verifiche pre-corsa 77
- videocamera 1
- videocamere 3, 62

Assistenza Tecnica

Per ricevere assistenza tecnica, contattare l'Assistenza tecnica Illumina.

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

Numeri di telefono dell'Assistenza tecnica Illumina

Area geografica	Gratuito	Internazionale
Australia	+61 1800 775 688	
Austria	+43 800 006249	+43 1 9286540
Belgio	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
Canada	+1 800 809 4566	
Cina		+86 400 066 5835
Danimarca	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
Finlandia	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
Francia	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
Germania	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
Hong Kong, Cina	+852 800 960 230	
India	+91 8006500375	
Indonesia		0078036510048
Irlanda	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
Italia	+39 800 985513	+39 236003759
Giappone	+81 0800 111 5011	
Malesia	+60 1800 80 6789	
Paesi Bassi	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
Nuova Zelanda	+64 800 451 650	
Norvegia	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
Filippine	+63 180016510798	
Singapore	1 800 5792 745	
Corea del Sud	+82 80 234 5300	
Spagna	+34 800 300 143	+34 911 899 417

Area geografica	Gratuito	Internazionale
Svezia	+46 2 00883979	+46 8 50619671
Svizzera	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
Taiwan, Cina	+886 8 06651752	
Thailandia	+66 1800 011 304	
Regno Unito	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197
Stati Uniti	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
Vietnam	+84 1206 5263	

Schede dei dati di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS): sono disponibili sul sito Web Illumina all'indirizzo support.illumina.com/sds.html.

Documentazione sul prodotto: disponibile per il download all'indirizzo support.illumina.com.



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (fuori dal Nord America)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

CE



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
Paesi Bassi

Sponsor australiano

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

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

© 2022 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

illumina[®]