

Instrumento NovaSeq 6000Dx

Documentación del producto

PROPIEDAD EXCLUSIVA DE ILLUMINA N.º de documento 200010105 v02 Agosto de 2022 PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO Este documento y su contenido son propiedad exclusiva de Illumina, Inc. y sus afiliados ("Illumina") y están previstos solamente para el uso contractual de sus clientes en conexión con el uso de los productos descritos en él y no para ningún otro fin. Este documento y su contenido no se utilizarán ni distribuirán con ningún otro fin ni tampoco se comunicarán, divulgarán ni reproducirán en ninguna otra forma sin el consentimiento previo por escrito de Illumina. Illumina no transfiere mediante este documento ninguna licencia bajo sus derechos de patente, marca comercial, copyright ni derechos de autor o similares derechos de terceros.

Para asegurar el uso correcto y seguro de los productos descritos en este documento, el personal cualificado y adecuadamente capacitado debe seguir las instrucciones incluidas en el mismo de manera rigurosa y expresa. Se debe leer y entender completamente todo el contenido de este documento antes de usar estos productos.

SI NO SE LEE COMPLETAMENTE EL DOCUMENTO Y NO SE SIGUEN EXPRESAMENTE TODAS LAS INSTRUCCIONES DESCRITAS EN ESTE, PODRÍAN PRODUCIRSE DAÑOS EN EL PRODUCTO, LESIONES PERSONALES, INCLUIDOS LOS USUARIOS U OTRAS PERSONAS Y DAÑOS EN OTROS BIENES Y QUEDARÁ ANULADA TODA GARANTÍA APLICABLE AL PRODUCTO.

ILLUMINA NO ASUME RESPONSABILIDAD ALGUNA DERIVADA DEL USO INCORRECTO DE LOS PRODUCTOS AQUÍ DESCRITOS (INCLUIDAS LAS PIEZAS O EL SOFTWARE).

© 2022 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea obtener información específica sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.

Historial de revisiones

Documento	Fecha	Descripción del cambio
N.º de documento 200010105 v02	Agosto de 2022	 Se ha añadido una declaración sobre la información de seguridad a la descripción general del sistema. Se ha actualizado Cumplimiento y seguridad: Se ha añadido una advertencia sobre el láser en francés y declaraciones de cumplimiento para FCC, Canadá, Japón y Corea. Se ha refundido la información sobre compatibilidad electromagnética y seguridad. Se ha actualizado la preparación del centro: Se ha añadido información sobre clavijas para nuevos países. Se ha eliminado la información sobre clavijas para China. Se ha eliminado la información sobre clavijas para China. Se ha eliminado la leyenda de los símbolos para consumibles. Se ha anactualizado los números de pieza de IUO a DIV. Se ha añadido una pipeta de 2 µl. Se ha actualizado el cartucho de lavado V2. Se han aclarado las configuraciones de los kits de consumibles. Se ha eliminado los pasos para la preparación de NaOH. Se han eliminado los pasos para desnaturalizar y diluir. Se han eliminado los pasos de configuración del experimento de secuenciación. Se ha especificado que la celda de flujo está en una caja cuando se retira del almacenamiento. Se ha actualizado Mantenimiento y solución de problemas: Se ha actualizado Mantenimiento y solución de problemas:

Documento	Fecha	Descripción del cambio
N.º de documento 200010105 v01	Abril de 2022	Se ha añadido Tris-HCl con pH 8,5 a los consumibles suministrados por el usuario. Se ha especificado el intervalo de temperaturas para el baño de agua a temperatura ambiente. Se ha corregido el tamaño de salida para las celdas de flujo S2. Se han corregido los números de catálogo para los cartuchos de tampones S2 y S4 y los tubos de bibliotecas. Se ha corregido Tris-HCl con pH 7,0 a Tris-HCl con pH 8,0.
N.º de documento 200010105 v00	Marzo de 2022	Publicación inicial.

Índice

Historial de revisiones	iii
Descripción general del sistema Descripción general de la secuenciación Componentes del instrumento Software en el instrumento	1 3 4 7
Cumplimiento y seguridad Consideraciones de seguridad y marcas Declaraciones de normativas y de conformidad del producto	
Preparación del centro Requisitos del laboratorio Consideraciones medioambientales Preparación del laboratorio para procedimientos de PCR Consideraciones eléctricas	
Consumibles y equipos Consumibles de secuenciación Consumibles y equipos proporcionados por el usuario	
Configuración del sistema Menú Configuración Menú principal Red y seguridad del instrumento	
Protocolo Crear un experimento de secuenciación Preparación de consumibles Carga de consumibles Seleccionar e iniciar el experimento Supervisión del progreso del experimento Inicio escalonado de experimentos Después de la secuenciación	50 50 51 54 57 58 60 61
Resultados de secuenciación Análisis en tiempo real Archivos de resultados de secuenciación	
Mantenimiento y resolución de problemas Mantenimiento preventivo Lavado de mantenimiento V2 Solución de problemas	

Índice alfabético	
Asistencia técnica	

Descripción general del sistema

El instrumento Illumina[®] NovaSeq 6000Dx[™] incluye una tecnología de secuenciación y una productividad flexibles en una plataforma a escala de producción con la eficacia y la rentabilidad de un sistema de sobremesa.

Funciones

- Secuenciación flexible: el NovaSeq 6000Dx se amplía a la secuenciación a niveles de producción con datos de alta calidad para una amplia variedad de aplicaciones.
- Celda de flujo de tramas: una celda de flujo de tramas genera grupos con espacios muy limitados para una densidad de grupos y salida de datos elevadas.
- Mezcla de ExAmp en el instrumento: el NovaSeq 6000Dx mezcla los reactivos ExAmp con la biblioteca, amplifica la biblioteca y realiza la generación de grupos para optimizar el flujo de trabajo de la secuenciación.
- Lectura de líneas de alta productividad: el NovaSeq 6000Dx utiliza una cámara con tecnología de adquisición de imágenes bidireccional para adquirir rápidamente imágenes de la celda de flujo en dos canales de color al mismo tiempo.
- Modo doble: el NovaSeq 6000Dx incluye un disco duro de arranque simple con modos independientes para diagnóstico *in vitro* (DIV) y para uso exclusivo en investigación (RUO). El modo se selecciona utilizando el botón de alternancia en las pantallas Sequencing (Secuenciación), Runs (Experimentos) y Applications (Aplicaciones). Una vez seleccionado, el modo se etiqueta con claridad en todas las pantallas.
- Servidor DRAGEN para NovaSeq 6000Dx de Illumina: el Servidor DRAGEN incluido proporciona análisis de datos acelerado por hardware.
- Illumina Run Manager: planea experimentos, gestiona usuarios y configura aplicaciones para el análisis tanto en el NovaSeq 6000Dx como fuera del instrumento mediante un navegador web utilizando Illumina Run Manager.

Consideraciones del modo doble

Los ensayos de secuenciación para el diagnóstico *in vitro* (DIV) se ejecutan en modo DIV. Solo los reactivos de secuenciación de DIV pueden usarse en modo DIV. Asegúrese siempre de que se haya seleccionado el modo correcto antes de comenzar a planear el experimento.

Este recurso describe el uso del Instrumento NovaSeq 6000Dx en modo DIV a menos que se indique lo contrario. Consulte la *Guía del sistema de secuenciación NovaSeq 6000 (n.º de documento 100000019358)* para obtener más información sobre las funciones RUO, incluida la integración con BaseSpace Sequence Hub.

Consideraciones de seguridad

Revise *Cumplimiento y seguridad* en la página 8 antes de realizar cualquier procedimiento en el sistema.

Descripción general de la secuenciación

La secuenciación en el NovaSeq 6000Dx incluye la generación de grupos, la secuenciación y la llamada de bases. Cada paso se lleva a cabo de manera automática durante un experimento de secuenciación. El análisis secundario se realiza a continuación en el Servidor DRAGEN para NovaSeq 6000Dx de Illumina cuando el experimento ha finalizado.

Generación de grupos

Durante la generación de grupos, las moléculas únicas de ADN se unen a la superficie de la celda de flujo y simultáneamente se amplifican para formar grupos.

Secuenciación

Se adquieren imágenes de los grupos con composiciones químicas de dos canales, un canal verde y un canal rojo, para codificar los datos para los cuatro nucleótidos. La celda de flujo se lee en múltiples pasadas y cada lectura se analiza como placas con lectura individualizada. El proceso se repite para cada ciclo de secuenciación.

Análisis principal

Durante el experimento de secuenciación, el software Análisis en tiempo real (RTA3) lleva a cabo Llamada de bases¹, filtrado y puntuación de calidad.² A medida que progresa el experimento, el software de control transfiere automáticamente los archivos de llamada de bases concatenadas³ (*.cbcl) a la carpeta de resultados especificada para el análisis de los datos.

Análisis secundario

Una vez finalizada la secuenciación y el análisis primario, comienza el análisis secundario. El método de análisis de datos secundario depende de la configuración del sistema y de la aplicación. Hay disponibles varias opciones de análisis secundario para ambos tipos de experimentos, RUO y DIV. Si se crea un experimento de secuenciación utilizando una aplicación Illumina Run Manager que utiliza el Servidor DRAGEN para NovaSeq 6000Dx de Illumina para realizar un análisis secundario, los datos de secuenciación se envían al servidor para su análisis utilizando la aplicación de análisis seleccionada durante la configuración del experimento.

¹Determina una base (A, C, G o T) para cada grupo de una placa determinada en un ciclo específico.

²Calcula un conjunto de predictores de calidad para cada llamada de bases y, a continuación, utiliza los valores de los predictores para determinar la puntuación Q.

³Contiene la llamada de bases y la puntuación de calidad asociada a cada grupo de cada uno de los ciclos de secuenciación.

Componentes del instrumento

El Instrumento NovaSeq 6000Dx consta de un monitor de pantalla táctil, una barra de estado, un botón de encendido con puertos USB adyacentes y tres compartimentos.

Componentes externos

Figura 1 Componentes externos



- A. **Monitor de pantalla táctil**: Muestra la interfaz del instrumento para la configuración del sistema y la configuración y monitorización de experimentos.
- B. **Compartimento de óptica**: Contiene los componentes ópticos que permiten la adquisición de imágenes de las dos superficies de las celdas de flujo.
- C. **Compartimento de líquidos**: Contiene cartuchos de reactivos y de tampones, y botellas para los reactivos utilizados.
- D. Compartimento de la celda de flujo: Alberga la celda de flujo.
- E. Barra de estado: indica el estado de la celda de flujo como listo para la secuenciación (verde), en procesamiento (azul) o requiere asistencia (naranja).
- F. Botón de encendido y puertos USB: Proporciona acceso al botón de encendido y a las conexiones USB para los componentes periféricos.

Compartimento de la celda de flujo

El compartimento de la celda de flujo contiene la platina de la celda de flujo, que incluye la celda de flujo A en el lado izquierdo y la celda de flujo B en el derecho. Cada lado dispone de cuatro abrazaderas que sitúan y fijan automáticamente la celda de flujo.

Un objetivo de alineación óptica montado sobre la platina de la celda de flujo diagnostica y corrige los problemas ópticos. Cuando Software operativo del NovaSeq (NVOS) así lo indica, el objetivo de alineación óptica alinea de nuevo el sistema y ajusta el enfoque de la cámara con el fin de mejorar los resultados de secuenciación.

Figura 2 Componentes de la platina de la celda de flujo



- A. Lado del soporte de la celda de flujo A
- B. Lado del soporte de la celda de flujo B
- C. Abrazadera de la celda de flujo (una de cuatro por cada lado)
- D. Objetivo de alineación óptica

NVOS controla la apertura y el cierre de la puerta del compartimento de la celda de flujo. La puerta se abre automáticamente para cargar una celda de flujo para un experimento o un lavado de mantenimiento. Después de la carga, el software cierra la puerta del compartimento, mueve la celda de flujo a su sitio y acopla las abrazaderas y la junta de vacío. Los sensores verifican la presencia y la compatibilidad de la celda de flujo.

Compartimento de líquidos

Para configurar un experimento, hay que acceder al compartimento de líquidos para cargar reactivos y tampones y vaciar las botellas de reactivos utilizados. El compartimento de líquidos, que se divide en dos lados iguales para la celda de flujo A y la celda de flujo B, se cierra con dos puertas.



Figura 3 Componentes del compartimento de líquidos

- A. **Botella pequeña de reactivos utilizados**: Contiene reactivos usados del cartucho de grupos, con un soporte para la tapa que permite guardarla cómodamente.
- B. **Botella pequeña de reactivos utilizados**: Contiene reactivos usados del cartucho de SBS y de tampones, con un soporte para la tapa que permite guardarla cómodamente.
- C. Refrigerador de reactivos: Refrigera los cartuchos de SBS y de grupos.
- D. **Cajón de refrigerador de reactivos**: Las posiciones identificadas con colores alojan el cartucho de SBS a la izquierda (etiqueta gris) y el cartucho de grupos a la derecha (etiqueta naranja).
- E. **Cajón de tampones**: Incluye la botella grande de reactivos utilizados a la izquierda y el cartucho de tampones a la derecha.

Reactivos usados

El sistema de fluídica está diseñado para enviar los reactivos de los cartuchos de grupos, que pueden ser peligrosos, a la botella pequeña de reactivos utilizados. Los reactivos de los cartuchos de SBS y de tampones pasan a la botella grande de reactivos utilizados. Sin embargo, puede producirse contaminación cruzada entre los flujos de reactivos utilizados. Se presupone que ambas botellas de reactivos utilizados contienen sustancias químicas que pueden ser peligrosas. La hoja de datos de seguridad (SDS) proporciona información detallada de la composición química.

Si el sistema está configurado para recoger los reactivos utilizados externamente, el flujo hacia la botella grande de reactivos utilizados se dirige de manera externa. Los reactivos de los cartuchos de grupos se dirigen a la botella pequeña de reactivos utilizados.

Software en el instrumento

El NovaSeq 6000Dx con Servidor DRAGEN incluye aplicaciones integradas que realizan experimentos de secuenciación, análisis en el instrumento y en el servidor y otras funciones relacionadas. Para más información sobre la configuración del software del instrumento, consulte *Configuración del sistema* en la página 35.

- Software operativo del NovaSeq (NVOS): Le guía durante los procedimientos de carga, controla las operaciones del instrumento y muestra estadísticas a medida que progresa el experimento. NVOS maneja la platina de la celda de flujo, dispensa reactivos, controla la fluídica, establece las temperaturas, captura imágenes de grupos en la celda de flujo y proporciona un resumen visual de las estadísticas de calidad.
- Análisis en tiempo real (RTA): Realiza el análisis de imágenes y la llamada de bases durante un experimento. NovaSeq 6000Dx utiliza RTA3, que incorpora mejoras de arquitectura, de seguridad y de otras características para optimizar el rendimiento.
- Universal Copy Service (UCS) (Servicio de copia universal): Copia archivos de resultados de RTA3 y NVOS a la carpeta de resultados y al Servidor DRAGEN durante un experimento. Si se detiene el Servicio de copia universal durante un experimento, el servicio realiza automáticamente varios intentos de reconexión y reanudación de la transferencia de datos.
- Illumina Run Manager: Planee los experimentos, vea los experimentos planificados y revise los resultados del experimento en el NovaSeq 6000Dx o remotamente en un navegador web. Illumina Run Manager controla también los permisos de usuario y de aplicación.
- Servidor DRAGEN para NovaSeq 6000Dx de Illumina: Cuando se completa la secuenciación en el NovaSeq 6000Dx, comienza el análisis en el Servidor DRAGEN. El análisis en el Servidor DRAGEN y la secuenciación en el instrumento pueden ejecutarse simultáneamente.

Cumplimiento y seguridad

Esta sección le ofrece información de seguridad importante en relación con la instalación, la reparación y el funcionamiento del Instrumento NovaSeq 6000Dx, así como declaraciones de normativas y de cumplimiento del producto. Lea esta información antes de realizar ningún procedimiento en el sistema.

El país de origen y la fecha de fabricación del sistema se muestran impresos en la etiqueta del instrumento.

Consideraciones de seguridad y marcas

En esta sección se identifican los peligros potenciales asociados a la instalación, el mantenimiento y el funcionamiento del instrumento. No utilice el instrumento ni interactúe con este de manera que le exponga a cualquiera de estos peligros.



PRECAUCIÓN

Si aparece líquido en el suelo cerca del instrumento, evite el contacto con el líquido y el instrumento, y restrinja inmediatamente el acceso al área. Corte la alimentación del instrumento con el disyuntor. Póngase inmediatamente en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Advertencias de seguridad general



Siga todas las instrucciones de funcionamiento cuando trabaje en las áreas marcadas con esta etiqueta a fin de reducir al mínimo los riesgos para el personal o el instrumento.

Advertencias de seguridad de la celda de flujo



PRECAUCIÓN

Tenga cuidado de no meter los dedos en la puerta de la celda de flujo para evitar lesiones.

Advertencia de seguridad de objeto pesado



El instrumento pesa aproximadamente 447 kg (985 lbs) al enviarse y aproximadamente 576 kg (1270 lbs) una vez instalado, por lo que podría provocar lesiones graves si se cae o se maneja de forma indebida.

Advertencia de seguridad de superficie caliente



No utilice el instrumento si se ha retirado alguno de los paneles.

No toque la estación de temperatura del compartimento de la celda de flujo. El calentador utilizado en este área tiene normalmente una temperatura controlada entre la temperatura ambiente (22 °C) y 60 °C. La exposición a las temperaturas del extremo superior de este intervalo puede provocar quemaduras.

Advertencia de seguridad del láser



El Instrumento NovaSeq 6000Dx es un producto láser de Clase 1 que contiene dos láseres de Clase 4, un láser de Clase 3B y un láser de Clase 3R.

Los láseres de clase 4 presentan riesgo ocular por reflexión directa y difusa. Evite la exposición de los ojos o la piel a la radiación láser de clase 4 directa o reflejada. Los láseres de clase 4 pueden provocar la combustión de materiales inflamables, además de quemaduras y lesiones graves en la piel como consecuencia de la exposición directa.

Los láseres de clase 3B presentan riesgo ocular. Pueden calentar la piel y los materiales, pero no presentan riesgo de quemaduras.

Los láseres de clase 3R presentan riesgo ocular por exposición directa del ojo al haz láser.

No utilice el instrumento si se ha retirado alguno de los paneles. Cuando la puerta de la celda de flujo está abierta, los conmutadores de interbloqueo de seguridad bloquean el haz láser. Poner en funcionamiento el instrumento estando alguno de estos paneles retirado conlleva un riesgo de exposición a la luz láser directa o reflejada.

Figura 4 Advertencia de láser de Clase 4 y Clase 3R (inglés)

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

Figura 5 Advertencia de láser de Clase 4 y Clase 3R (francés)



Toma a tierra de protección



El instrumento se conecta a una toma a tierra de protección a través de la caja. La toma a tierra de seguridad del cable de alimentación devuelve la toma a tierra de protección a una referencia segura. La conexión de toma a tierra de protección del cable de alimentación debe estar en condiciones óptimas de funcionamiento cuando se utilice este dispositivo.

Declaraciones de normativas y de conformidad del producto

Consideraciones sobre la compatibilidad electromagnética

Evalúe el entorno electromagnético antes de poner en funcionamiento el dispositivo. Este equipo se ha diseñado y probado de conformidad con la norma CISPR 11, clase A. En un entorno doméstico, podría producir perturbaciones radioeléctricas. Si esto ocurriera, podría tener que mitigarlas.

Este equipamiento de diagnóstico médico in vitro (DIV) cumple con los requisitos de emisiones e inmunidad descritos en la normativa IEC 61326-2-6 (UNE-EN 61326-2-6). Este equipamiento está diseñado para su uso en instalaciones profesionales de ámbito sanitario, y es probable que tenga un funcionamiento incorrecto si se emplea en un entorno domiciliario. Si sospecha que el rendimiento se ve afectado por interferencias electromagnéticas, aumente la distancia entre el equipamiento y la fuente de las interferencias para restablecer el funcionamiento correcto. Este equipamiento no está previsto para su uso en un entorno residencial, ya que es posible que no ofrezca una protección adecuada frente a la recepción de radio en este tipo de entorno. Evalúe el entorno electromagnético antes de poner el dispositivo en funcionamiento.

No utilice el dispositivo cerca de fuentes de radiación electromagnética intensa, ya que pueden interferir en el funcionamiento correcto del sistema.

El entorno de uso previsto para el NovaSeq 6000Dx se limita a los entornos de laboratorio de los centros sanitarios profesionales. No está previsto que el instrumento se utilice en ninguno de los entornos siguientes: consultorios médicos; unidades de cuidados intensivos; salas de urgencias o ambulatorios; clínicas de salud; habitaciones de pacientes; consultas de odontología; centros de atención limitada; residencias de ancianos; farmacias; salas de primeros auxilios, ni cerca de fuentes de radiación electromagnética intensa (p. ej., resonancia magnética). De acuerdo con el entorno de uso previsto definido previamente, el NovaSeq 6000Dx se considera un ENTORNO ELECTROMAGNÉTICO CONTROLADO con fuentes electromagnéticas fijas, por lo que ningún fallo del NovaSeq 6000Dx causará directamente daños, lesiones graves ni la muerte de un paciente cuando el NovaSeq 6000Dx se utilice según lo previsto. Entre las fuentes electromagnéticas que podrían utilizarse en las proximidades del NovaSeq 6000Dx se incluyen las siguientes:

• Sistemas de identificación por radiofrecuencia (RFID)

- Redes de área local inalámbricas (WLAN)
- Radios móviles de mano (p. ej., TETRA, emisor-receptor portátil)
- Mensáfonos
- Otros dispositivos inalámbricos (incluidos dispositivos de electrónica de consumo)

Exposición humana a radiofrecuencia

Este equipo cumple los límites máximos de exposición permitida (MPE) para la población general de acuerdo con el artículo 47 de la CFR § 1.1310, tabla 1.

Este equipo cumple los límites de exposición humana a campos electromagnéticos (CEM) para dispositivos que funcionen dentro del rango de frecuencia de 0 Hz a 10 GHz, que se emplea en la identificación de radiofrecuencia (RFID) dentro de un entorno laboral o profesional. (EN 50364:2010, sección 4.0)

Para más información sobre el cumplimiento de RFID, consulte *Guía de cumplimiento del lector de RFID* (*n.º de documento 100000002699*).

Declaración de conformidad simplificada

Por el presente documento, Illumina, Inc. declara que el Instrumento NovaSeq 6000Dx cumple las siguientes directivas:

- Directiva sobre compatibilidad electromagnética [2014/30/EU]
- Directiva de baja tensión [2014/35/EU]
- Directiva de equipos radioeléctricos [2014/53/EU]

Por el presente documento Illumina, Inc. declara que el servidor informático cumple las siguientes directivas:

 Directiva de restricción de sustancias peligrosas (RoHS) [2011/65/EU] modificada por la Directiva Delegada UE 2015/863

El texto completo de la declaración de conformidad con las normativas de la UE se encuentra disponible en la siguiente dirección de Internet: support.illumina.com/certificates.html.

Directiva sobre residuos de aparatos eléctricos y electrónicos (RAEE)



Esta etiqueta indica que el instrumento cumple la Directiva sobre residuos de aparatos eléctricos y electrónicos (RAEE).

Visite support.illumina.com/certificates.html para obtener instrucciones sobre el reciclado del equipo.

Cumplimiento de las normas de la FCC

Este dispositivo cumple el artículo 15 de las normas de la FCC. El funcionamiento está sujeto a estas dos condiciones:

- 1. Este dispositivo no puede causar interferencias dañinas.
- 2. Este dispositivo debe aceptar cualquier interferencia recibida, incluidas las interferencias que puedan derivar en un funcionamiento no deseado.



PRECAUCIÓN

Los cambios o las modificaciones realizados en esta unidad que no haya aprobado de manera expresa la parte responsable del cumplimiento normativo podrían anular la autorización del usuario para utilizar el equipo.

NOTA Este equipo se ha probado y se ha determinado que cumple los límites de un dispositivo digital de clase A conforme al artículo 15 de las normas de la FCC. Estos límites se han diseñado para ofrecer una protección adecuada frente a interferencias dañinas cuando el equipo se utilice en un entorno comercial.
 Este equipo genera, utiliza y puede irradiar energía de radiofrecuencia y, si no se ha instalado ni utilizado de acuerdo con el manual del instrumento, puede causar interferencias dañinas en las comunicaciones por radio. Es probable que el funcionamiento de este equipo en una zona residencial produzca interferencias dañinas, en cuyo caso se solicitará a los usuarios que corrijan dichas interferencias por sus propios medios.

Cables apantallados

Debe utilizar cables apantallados con esta unidad para garantizar el cumplimiento de los límites de la clase A de la FCC.

Cumplimiento de las normas de la IC

Este aparato digital de clase A cumple todos los requisitos de la normativa canadiense relativa a equipos que producen interferencias.

Este dispositivo cumple los estándares RSS exentos de licencia de la industria de Canadá (IC, Industry Canada). El funcionamiento está sujeto a estas dos condiciones:

- 1. Este dispositivo no puede causar interferencias.
- 2. Este dispositivo debe aceptar cualquier interferencia, incluidas las interferencias que puedan derivar en un funcionamiento no deseado del dispositivo.

Cumplimiento de las normas de Japón

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

Cumplimiento de las normas de Corea

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

Cumplimiento de las normas de los Emiratos Árabes Unidos

- Número de registro de TRA: ER0117765/13
- Número de distribuidor: DA0075306/11

Cumplimiento de las normas de Tailandia

Este equipo de telecomunicaciones satisface los requisitos de la Comisión Nacional de Telecomunicaciones.

Preparación del centro

En esta sección se proporcionan especificaciones y directrices para la preparación del centro para la instalación y el funcionamiento del Instrumento NovaSeq 6000Dx.

Entrega e instalación

Un representante de Illumina entrega el sistema, desembala los componentes y coloca el instrumento. Asegúrese de que el espacio del laboratorio esté preparado antes de la entrega.

Los riesgos de carga sobre el suelo relacionados con la instalación del instrumento deben ser evaluados y abordados por el personal del edificio.



PRECAUCIÓN

Solo el personal autorizado puede desempaquetar, instalar o mover el instrumento. La manipulación incorrecta del instrumento puede afectar a la alineación o dañar sus componentes.

Un representante de Illumina instala y prepara el instrumento. Al conectar el instrumento a un sistema de gestión de datos o a una ubicación remota de red, asegúrese de que la ruta de almacenamiento de datos esté seleccionada antes de la fecha de instalación. El representante de Illumina puede probar el proceso de transferencia de datos durante la instalación.



PRECAUCIÓN

Una vez que el representante de Illumina haya instalado y preparado el instrumento, *no* lo cambie de lugar. Si lo mueve de forma incorrecta, la alineación óptica podría verse afectada y comprometer la integridad de los datos. Si debe cambiar la posición del instrumento, póngase en contacto con el representante de Illumina.

Entrega del Servidor DRAGEN

Consulte la Documentación del producto de Servidor DRAGEN para NovaSeq 6000Dx de Illumina en el sitio de asistencia de Illumina para obtener más información sobre la entrega del Servidor DRAGEN e información sobre la instalación.

Dimensiones y contenido del embalaje

El NovaSeq 6000Dx y sus componentes se envían en un embalaje de madera (Embalaje n.º 1) y un embalaje de cartón (Embalaje n.º 2). Utilice las dimensiones siguientes para determinar el ancho de puerta mínimo necesario para permitir el acceso de los embalajes de envío.

Medición	Embalaje n.º 1	Embalaje n.º 2
Altura	155 cm (61 in)	84 cm (33 in)
Anchura	104 cm (41 in)	122 cm (48 in)
Profundidad	155 cm (61 in)	102 cm (40 in)
Peso con el embalaje	628 kg (1385 lbs)	176 kg (388 lbs)

Para el Embalaje n.º 1, los puntos de acceso para la carretilla elevadora se encuentran en el lado de la profundidad del embalaje. Téngalo en cuenta al considerar el espacio libre en la puerta y el ascensor cuando transporte el instrumento en el embalaje.

El peso del SAI y del paquete de baterías externo para el SAI incluidos en el Embalaje n.º 2 pueden variar según el modelo que se envíe.

- El Embalaje n.º 1 contiene el instrumento.
- El Embalaje n.º 2 contiene cinco cajas con el contenido siguiente:
 - Caja: sistema de alimentación ininterrumpida (SAI), peso 46 kg (100 lbs)
 - Caja: paquete de baterías externas para el SAI, peso 64 kg (140 lbs)
 - Caja: accesorios, peso total 31 kg (68 lbs)
 - Monitor
 - Botella grande de reactivos usados y botella pequeña de reactivos usados
 - Bandeja de pérdidas del instrumento
 - Gradillas de descongelación de rejilla (4)
 - Celdas de flujo de lavado (2)
 - Cartuchos de lavado de SBS (2)
 - Cartuchos V2 de lavado de grupos (2)
 - Teclado y ratón inalámbricos, si son adecuados para la región. A falta de un teclado inalámbrico, utilice un teclado con cable.
 - Caja: componentes adicionales
 - Dos botellas de bandeja de tampones embaladas de forma individual
 - Cable de alimentación específico para la región
 - Tarjeta de documentos del instrumento para DIV (n.º de documento 200016882)
 - Caja: adaptador para chimenea

Requisitos del laboratorio

Utilice las especificaciones y los requisitos proporcionados en este apartado para configurar el espacio del laboratorio.

Colocación del instrumento

Figura 6 Dimensiones del instrumento



Tabla 1 Dimensiones del instrumento

Medición	Dimensiones del instrumento*
Altura	165,6 cm (65,2 in)
Anchura	80,0 cm (31,5 in)
Profundidad	94,5 cm (37,2 in)
Peso	481 kg (1059 lb)

* El SAI no se incluye en esta dimensión, debe asignarse espacio adicional.

Coloque el instrumento de modo que permita una correcta ventilación, acceso para el mantenimiento del instrumento y acceso al interruptor de alimentación, a la toma de corriente y al cable de alimentación.

- Coloque el instrumento de modo que el personal pueda alcanzar el lado derecho del instrumento para encender o apagar el interruptor de alimentación. Este interruptor está en el panel trasero adyacente al cable de alimentación.
- Coloque el instrumento de modo que el personal pueda desconectar con rapidez el cable de alimentación de la toma de corriente.
- Respete las siguientes dimensiones de espacio mínimo de separación para garantizar que se pueda acceder al instrumento desde todos los lados.
- Coloque el SAI en uno cualquiera de los lados del instrumento. El SAI puede colocarse dentro del espacio mínimo de separación de los laterales del instrumento.

Tabla 2 Espacio de separación del instrumento

Acceso	Espacio mínimo
Parte frontal	Deje al menos 152,4 cm (60 in) en la parte frontal del instrumento para abrir el compartimento de líquidos y proporcionar acceso general al equipo para el movimiento del personal en torno al mismo.
Laterales	Deje al menos 76,2 cm (30 in) a cada lado del instrumento como espacio de separación en torno al instrumento y para el acceso. Los instrumentos que se colocan uno al lado del otro requieren tan solo 76,2 cm (30 in) en total entre los dos instrumentos.
Parte posterior	Deje al menos 30,5 cm (12 in) por detrás del instrumento, colocado cerca de una pared, para su ventilación y acceso. Deje al menos 61 cm (24 in) entre dos instrumentos colocados con las partes posteriores enfrentadas.
Parte superior	Asegúrese de que no haya estanterías ni otras obstrucciones sobre el instrumento.



PRECAUCIÓN

Una colocación incorrecta puede reducir la ventilación. La reducción de la ventilación aumenta la salida de calor y la emisión de ruido, lo que afecta a la integridad de los datos y a la seguridad del personal.

Disposición de una instalación de varios sistemas

Consulte en el diagrama un ejemplo de disposición de una instalación multisistema, incluidos los requisitos mínimos de espacio.



Figura 7 Disposición de una instalación de varios sistemas

Consideraciones medioambientales

Tabla 3 Especificaciones medioambientales del instrumento

Elemento	Especificación
Calidad del aire	Utilice el instrumento en un entorno de grado de contaminación II o mejor. Un entorno de grado de contaminación II se define como aquel en el que se suelen presentar únicamente contaminantes no conductores.
Altitud	Coloque el instrumento a una altitud inferior a 2000 metros (6500 pies).
Humedad	Transporte y almacenamiento: Humedad sin condensación entre el 15 % y el 80 %. Condiciones de funcionamiento: Mantenga una humedad relativa sin condensación de entre el 20 % y el 80 %.
Ubicación	Utilice el instrumento únicamente en entornos interiores.
Temperatura	Transporte y almacenamiento: $-10 ^{\circ}\text{C}$ a 50 $^{\circ}\text{C}$ (14 $^{\circ}\text{F}$ a 122 $^{\circ}\text{F}$). Condiciones de funcionamiento: Mantenga una temperatura de laboratorio de entre 19 $^{\circ}\text{C}$ y 25 $^{\circ}\text{C}$ (22 $^{\circ}\text{C} \pm 3 ^{\circ}\text{C}$). Se trata de la temperatura de funcionamiento del instrumento. Durante un experimento, no deje que la temperatura ambiente varíe más de $\pm 2 ^{\circ}\text{C}$.

Elemento	Especificación
Ventilación	Consulte al departamento de mantenimiento los requisitos de ventilación en función de las especificaciones de salida de calor del instrumento.
Vibración	Limite la vibración continua del suelo del laboratorio a las disposiciones de la norma ISO para oficinas. Evite superar los límites ISO para quirófanos durante los experimentos de secuenciación. Evite cualquier alteración o golpes intermitentes cerca del instrumento.

Tabla 4 Salida del calor

Consumo de potencia máximo	Energía térmica
2500 vatios	Máximo de 8530 BTU/hora
	Promedio de 6000 BTU/hora
2500 vatios	Máximo de 8530 BTU/hora Promedio de 6000 BTU/hora

Tabla 5 Generación de ruido

Generación de ruido	Distancia del instrumento
<75 dB	1 metro (3,3 pies)

Manipulación a granel de reactivos usados

El NovaSeq 6000Dx está equipado para dispensar los reactivos de tampones usados a un contenedor de gran capacidad suministrado por el usuario para su procesamiento o manipulación por separado. Los conductos externos que se suministran para reactivos usados, incluidos en el kit de accesorios, tienen una longitud de 5 metros, y se conectan a la parte posterior izquierda del instrumento.

Illumina solo admite la recogida externa de los reactivos usados con los conductos suministrados. Cada conducto contiene los residuos de tampones de una sola posición de celda de flujo, y debe dirigirse de forma individual al contenedor de gran capacidad.

El contenedor debe colocarse a 5 metros como máximo del instrumento. La abertura debe estar a una altura máxima de 1000 mm con respecto al suelo.

Ventilación

Una chimenea vertical redonda de 25,4 cm ventila el 60 % de la salida de calor del instrumento. Puede ventilar a la sala o conectar la chimenea a un conducto suministrado por el usuario.

Utilice las siguientes directrices para los conductos de ventilación.

- Es preferible emplear conductos flexibles.
- Evite curvar los conductos flexibles cuando sea posible. Procure que los conductos flexibles tengan el mínimo número de curvas posible.
- Los conductos flexibles con curvas deben mantener el diámetro de 25,4 cm de la chimenea en todos los puntos.
- Elimine los acodamientos y cualquier otra restricción del flujo de aire.
- Pueden utilizarse conductos rígidos. El uso de conductos rígidos puede requerir que el personal de Illumina traslade el instrumento al servicio técnico.
- Utilice un conducto de la menor longitud posible.
- Diríjalo a un espacio con suficiente ventilación para evitar restricciones en el flujo de aire o su retorno al instrumento.



PRECAUCIÓN

El incumplimiento de estas directrices puede influir en el rendimiento del instrumento y provocar fallos en los experimentos.

El flujo de aire en la chimenea es de 764,55 m3/h (450 CFM). La temperatura del aire en la chimenea es hasta 12 °C más alta que la temperatura ambiente.

Figura 8 Colocación de la chimenea para ventilación





Preparación del laboratorio para procedimientos de PCR

Para algunos métodos de preparación de bibliotecas es necesario el proceso de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Establezca zonas y procedimientos de laboratorio especializados para evitar la contaminación de productos de PCR antes de comenzar a trabajar en el laboratorio. Los productos de PCR pueden contaminar los reactivos, los instrumentos y las muestras, lo que se traduce en un retraso en las operaciones normales y unos resultados imprecisos.

Siga estas directrices para evitar la contaminación cruzada.

- Establezca una zona previa a la PCR para los procesos previos a la PCR.
- Establezca una zona posterior a la PCR para procesar los productos de la PCR.
- No utilice el mismo fregadero para lavar los materiales previos a la PCR y posteriores a la PCR.
- Nunca utilice el mismo sistema de purificación de agua en las zonas previas a la PCR y posteriores a la PCR.
- Almacene los suministros usados en protocolos previos a la PCR en la zona previa a la PCR. Transfiéralos a la zona posterior a la PCR según sea necesario.
- No utilice el mismo equipo y los mismos suministros en los procesos previos a la PCR y posteriores a la PCR. Utilice un conjunto independiente de equipo y suministros en cada zona.
- Establezca zonas de almacenamiento exclusivas para los consumibles utilizados en cada zona.

Consideraciones eléctricas

Tabla 6 Especificaciones de alimentación

Тіро	Especificación
Tensión de línea	200-240 V CA a 50/60 Hz
Consumo de potencia máximo	2500 vatios

Para tensiones de 200 a 240 voltios de CA, el centro debe cablearse con una línea conectada a tierra de 15 amperios como mínimo y una tensión adecuada. Se necesita una conexión a tierra eléctrica. Si la tensión fluctúa más del 10 %, será necesario un regulador de línea eléctrica.

El instrumento debe estar conectado a un circuito específico que no debe compartirse con ningún otro equipo.

Fusibles

El instrumento no contiene ningún fusible que el usuario pueda reemplazar.

Cables de alimentación

El instrumento se suministra con un conector C20 de conformidad con la norma internacional IEC 60320 y se envía con un cable de alimentación específico de cada región. Para conseguir conectores o cables de alimentación equivalentes que cumplan las normativas locales, consulte a otros terceros, como Interpower Corporation (www.interpower.com). Todos los cables de alimentación tienen una longitud de 2,5 m (8 ft).

Las tensiones peligrosas solo se eliminan del instrumento cuando se desconecta el cable de alimentación de la fuente de alimentación de CA.



PRECAUCIÓN

Nunca utilice un cable alargador para conectar el instrumento a un sistema de alimentación.

La tabla siguiente detalla el sistema de alimentación admitido para su región. Como alternativa, todas las regiones pueden utilizar IEC 60309.

Región	Cable de alimentación enviado	Suministro eléctrico	Toma de red	
Australia	AS 3112 SAA Macho a C19, 15 amperios	230 V CA, 15 amperios	15 amperios Tipo I	
Brasil	Clavija NBR14136 a C19, 16 amperios	220 V CA, 16 amperios	NBR 14136 Tipo N	
Chile	CEI 23-16 a C19, 16 amperios	220 V CA, 16 amperios	CEI 23-16/VII, Tipo L	

Tabla 7 Requisitos del cable de alimentación en las regiones seleccionadas

Región	Cable de alimentación enviado	Suministro eléctrico	Toma de red
Unión Europea ¹ Serbia Ucrania	Schuko CEE 7 (EU1-16p) a C19, 16 amperios	220-240 V CA, 16 amperios	Schuko CEE 7/3
India	IS1293 a C19, 16 amperios	230 V CA, 16 amperios	BS546A Tipo M
Israel	IEC 60320 C19, 16 amperios	230 V CA, 16 amperios	SI 3216 amperios Tipo H
Japón	NEMA L6-30P, 30 amperios	200 V CA, 30 amperios	NEMA L6-30R
Nueva Zelanda	AS 3112 SAA Macho a C19, 15 amperios	230 V CA, 15 amperios	Específica 15 amperios Tipo I
Norteamérica Colombia	NEMA L6-20P a C19, 20 amperios	208 V, 16 amperios	NEMA L6-20R

Región	Cable de alimentación enviado	Suministro eléctrico	Toma de red	
Perú	NEMA L6-20P a C19,	220 V CA,	NEMA L6-20R	
Filipinas	20 amperios	16 amperios		
Arabia saudí	abia saudí IEC60309 316P6 a C19, 16 amperios		IEC60309 316C6	
Singapur	IEC60309 316P6 a C19, 16 amperios	230-250 V CA, 16 amperios	IEC60309 316C6	
Corea del Sur	Schuko CEE 7 (EU1-16p) a C19,	220 V CA,	Schuko CEE 7/3	
Tailandia	16 amperios	16 amperios		
Suiza	SEV 1011 Tipo 23 Clavija J,	230 V CA,	SEV 1011 Tipo 23	
	16 amperios	16 amperios	Toma de red J	

Región	Cable de alimentación enviado	Suministro eléctrico	Toma de red
Reino Unido	IEC60309 316P6 a C19, 16 amperios	230-250 V CA, 16 amperios	IEC60309 316C6

¹ Excepto Suiza y el Reino Unido.

Sistema de alimentación ininterrumpida

Las siguientes especificaciones se aplican al SAI global que se envía con el instrumento.

Para aquellos países que requieren un modelo diferente de SAI y de batería, y alternativas, consulte *Sistema de alimentación ininterrumpida específico por países* en la página 26.

• SAI: APC Smart-UPS X 3000 Rack/Tower LCD 200-240V, Modelo n.º SMX3000RMHV2U

Especificación	SAI
Potencia de salida máxima	2700 vatios*/ 3000 VA
Tensión de entrada (nominal)	200–240 V de CA
Frecuencia de entrada	50/60 Hz
Conexión de entrada	IEC-60320 C20
Peso	95 kg (210 lbs)
Dimensiones (formato torre: alto × ancho × profundidad)	43,2 cm × 66,7 cm × 17 cm (17 in × 26,26 in × 6,72 in)

* El SAI requiere un máximo de 330 vatios para cargar las baterías y realizar otras funciones internas. Durante este tiempo hay 2700 vatios disponibles para la salida.

Sistema de alimentación ininterrumpida específico por países

Illumina suministra los siguientes SAI específicos por países.

País	SAI modelo n.º
Colombia	SRT3000RMXLW-IEC
India	SUA3000UXI
Japón	SRT5KXLJ
México	SRT3000RMXLW-IEC
Corea del Sur	SRT3000RMXLW-IEC
Tailandia	SRT3000RMXLW-IEC

Para obtener información adicional sobre las especificaciones, consulte el sitio web de APC (www.apc.com).

NOTA Las opciones exactas de SAI y baterías están sujetas a disponibilidad y pueden cambiar sin previo aviso.

Consumibles y equipos

Esta sección recoge todo lo necesario para realizar un experimento de secuenciación en NovaSeq 6000Dx. Esto incluye los consumibles suministrados por Illumina y los consumibles y el equipo auxiliares que debe obtener de otros proveedores. Estos artículos son necesarios para completar el protocolo y para realizar los procedimientos de mantenimiento y resolución de problemas.

Para más información sobre los símbolos que aparecen en los consumibles o en su embalaje, consulte *Leyenda de los símbolos de DIV de Illumina (n.º de documento 100000039141).*

Consumibles de secuenciación

Un experimento NovaSeq 6000Dx requiere los siguientes componentes:

- Cartucho de tampones
- Cartucho de grupos
- Celda de flujo
- Tubo de bibliotecas
- Cartucho de SBS

Los consumibles NovaSeq 6000Dx se envasan en las siguientes configuraciones. Cada componente utiliza identificación de radiofrecuencia (RFID) para un seguimiento y una compatibilidad de los consumibles más precisos.

Tabla 8 Consumibles proporcionados por Illumina

Nombre del kit	Contenido	Número de catálogo Illumina
Kit de reactivos S2 v1.5 para NovaSeq 6000Dx (300 ciclos)	Cartucho de grupos S2 Celda de flujo S2 Cartucho de SBS S2	20046931
Kit de reactivos S4 v1.5 para NovaSeq 6000Dx (300 ciclos)	Cartucho de grupos S4 Celda de flujo S4 Cartucho de SBS S4	20046933
Cartucho de tampones S2 NovaSeq 6000Dx	Cartucho de tampones S2	20062292
Cartucho de tampones S4 NovaSeq 6000Dx	Cartucho de tampones S4	20062293

Nombre del kit	Contenido	Número de catálogo Illumina
Tubo de bibliotecas NovaSeq 6000Dx	Tubo de bibliotecas individual	20062290
Tubo de bibliotecas NovaSeq 6000Dx, envase de 24	24 tubos de bibliotecas	20062291

Para garantizar un rendimiento adecuado, cuando reciba los consumibles, almacene sus componentes a la temperatura indicada.

Consumible	Cantidad	Temperatura de almacenamiento	Longitud	Anchura	Altura
Celda de flujo	1	Entre 2 °C y 8 °C	27,7 cm (10,9 in)	17 cm (6,7 in)	3,8 cm (1,5 in)
Cartucho de grupos	1	Entre –25 °C y –15 °C	29,5 cm (11,6 in)	13 cm (5,1 in)	9,4 cm (3,7 in)
Cartucho de SBS	1	Entre –25 °C y –15 °C	30 cm (11,8 in)	12,4 cm (4,9 in)	11,2 cm (4,4 in)
Cartucho de tampones	1	Entre 15 °C y 30 °C	42,2 cm (16,6 in)	20,6 cm (8,1 in)	21,1 cm (8,3 in)
Tubo de bibliotecas	1	Entre 15 °C y 30 °C	4,1 cm (1,6 in)	2,3 cm (0,9 in)	12,4 cm (4,9 in)

Tabla 9 Almacenamiento del kit NovaSeq 6000Dx

Detalles de los consumibles

Para identificar componentes del kit compatibles, las celdas de flujo y los cartuchos están etiquetados con símbolos que muestran el modo del kit.

Tabla 10 Etiquetado de compatibilidad

Modo del kit	Marcado de la etiqueta	Descripción
Componentes del kit S2	S2	La celda de flujo S2 genera hasta 4100 millones de lecturas individuales que superan el filtro, con resultados de hasta 1000 Gb a 2 × 150 pb. La celda de flujo S2 proporciona secuenciación rápida para la mayoría de las aplicaciones de alta productividad.

Modo del kit	Marcado de la etiqueta	Descripción
Componentes del kit S4	S4	La celda de flujo S4 genera hasta 10 000 millones de lecturas individuales que superan el filtro, con resultados de hasta 3000 Gb a 2 × 150 pb. La celda de flujo S4 es una versión de celda de flujo de cuatro carriles diseñada para lograr el mayor número de resultados.

Celda de flujo

La celda de flujo de NovaSeq 6000Dx es una celda de flujo de tramas integrada en un cartucho. La celda de flujo es un sustrato basado en vidrio que contiene miles de millones de nanopocillos en una disposición ordenada. Los grupos se generan en los nanopocillos, desde los cuales se lleva a cabo posteriormente la secuenciación.

Cada celda de flujo cuenta con varios carriles para secuenciar bibliotecas agrupadas. La celda de flujo S2 tiene 2 carriles y la S4 tiene cuatro. Se adquieren imágenes de cada carril en varios sectores y, posteriormente, el software divide la imagen de cada sector en secciones de menor tamaño denominadas placas.

Es normal que la celda de flujo presente algunos arañazos u otros defectos superficiales y no es previsible que estos afecten a la calidad y cantidad de los datos. Illumina recomienda utilizar estas celdas de flujo siguiendo el procedimiento normal.

Figura 9 Celdas de flujo



- A. Cartucho de la celda de flujo
- B. Celda de flujo de 4 carriles (S4)
- C. Celda de flujo de 2 carriles (S2)

La parte inferior de las celdas de flujo cuenta con múltiples juntas. Las bibliotecas y los reactivos acceden a los carriles de la celda de flujo a través de las juntas del extremo de entrada de la celda de flujo. Los reactivos utilizados se expulsan de los carriles a través de las juntas del extremo de salida.



PRECAUCIÓN

No toque las juntas cuando manipule la celda de flujo.

Figura 10 Celda de flujo volteada



- A. Extremo de salida
- B. Extremo de entrada
- C. Junta (una de cuatro)

Detalles de los cartuchos de tampones, de grupos y de SBS

Los cartuchos de tampones, de grupos y de SBS de NovaSeq 6000Dx cuentan con depósitos con cierre metálico precargados con reactivos, tampones y solución de lavado. Los cartuchos de grupos y de SBS se incluyen con los kits de reactivos NovaSeq 6000Dx. El cartucho de tampones se vende por separado.

Los cartuchos se cargan directamente en el instrumento, y se codifican con colores y etiquetan para reducir los errores de carga. Las guías del cajón del refrigerador de reactivos y del cajón de tampones garantizan la orientación correcta.

Tabla 11 Cartuchos NovaSeq 6000Dx

Consumible	Descripción
Cartucho de tampones	Precargado con tampones de secuenciación y con un peso de hasta 6,8 kg (15 lb). Un mango de plástico facilita el transporte, la carga y la descarga.
	El cartucho de tampones contiene reactivos fotosensibles. Mantenga embalado el contenedor de tampones hasta su uso.
Consumible	Descripción
-----------------------	---
Cartucho de grupos	Precargado con reactivos para la generación de grupos, el indexado y con reactivos "paired-end", así como con solución de lavado. Incluye una posición designada para el tubo de bibliotecas. El etiquetado naranja distingue el cartucho de grupos del cartucho de SBS.
	El reactivo de desnaturalización en la posición n.º 30 contiene formamida, que es una amida orgánica y una toxina reproductiva. Para garantizar un desecho seguro de cualquier reactivo no usado tras el experimento de secuenciación, se puede extraer este depósito.
Cartucho de SBS	Precargado con reactivos de secuenciación en volúmenes específicos para el número de ciclos que admite el kit. Cada una de las tres posiciones de los reactivos tiene una posición contigua reservada para el lavado automático posterior al experimento. El etiquetado gris distingue el cartucho de SBS del cartucho de grupos.
\sim	El cartucho de SBS contiene reactivos fotosensibles. Mantenga embalado el contenedor de SBS hasta su uso.

Depósitos reservados para cartuchos de grupos

Hay reservados tres depósitos para cebadores personalizados y una posición vacía para el tubo de bibliotecas. Para la trazabilidad de las muestras, el tubo de bibliotecas se carga en el cartucho de grupos durante el proceso de configuración del experimento y permanece en el cartucho hasta la finalización del experimento.

1 2 3 4 1 2 3 4 1 6 7 8 1 10 10 12 1 10 10 10 1 10 10 10 1 10 10 10 1 10 10 10 1 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 11 10 10 10 12 20 20 20 20 20 20 20 20 20 20 20 20 30 31 32 1</t

Figura 11 Depósitos numerados

Tabla 12 Depósitos de cartuchos de grupos

Posición	Reservado para
5, 6 y 7	Cebadores personalizados
	opcionales
8	Tubo de bibliotecas

Consumibles y equipos proporcionados por el usuario

Consumible	Proveedor	Finalidad
Botella de centrifugado, 500 ml	Proveedor de laboratorio general	Dilución de Tween 20 para un lavado de mantenimiento.
Tubo de centrifugado, 30 ml	Proveedor de laboratorio general	Dilución de NaOCI para un lavado de mantenimiento.
Guantes desechables sin talco	Proveedor de laboratorio general	Usos múltiples.
Paños humedecidos en alcohol isopropilo al 70 % o Paños humedecidos en etanol al 70 %	VWR, n.º de catálogo 95041-714 o equivalente Proveedor de laboratorio general	Limpieza de componentes antes de un experimento y con fines generales.
Toallita de laboratorio sin pelusa	VWR, n.º de catálogo 21905-026, o equivalente	Secado de la platina de la celda de flujo y usos múltiples.

Tabla 13 Consumibles

Consumible	Proveedor	Finalidad
NaOCI para reactivos al 5 %	Sigma-Aldrich, n.º de catálogo 239305	Realización de un lavado de mantenimiento.
Puntas de pipeta, 2 µl	Proveedor de laboratorio general	Pipeteo para dilución y carga de bibliotecas.
Puntas de pipeta (20 µl)	Proveedor de laboratorio general	Pipeteo para dilución y carga de bibliotecas.
Puntas de pipeta (200 µl)	Proveedor de laboratorio general	Pipeteo para dilución y carga de bibliotecas.
Puntas de pipeta (1000 µl)	Proveedor de laboratorio general	Pipeteo para dilución y carga de bibliotecas.
Reactivo o alcohol isopropilo de grado espectrofotométrico (99 %), botella de 100 ml	Proveedor de laboratorio general	Limpieza periódica de los componentes ópticos y soporte para el cartucho de limpieza.
Tween 20	Sigma-Aldrich, n.º de catálogo P7949	Realización de un lavado de mantenimiento.
Agua de laboratorio	Proveedor de laboratorio general	Dilución de Tween 20 e hipoclorito sódico para un lavado de mantenimiento.
Tabla 14 Equipo		
Elemento		Proveedor
Congelador, entre –25 °C y	′ −15 °C	Proveedor de laboratorio general
Tubo graduado, 500 ml, es	téril	Proveedor de laboratorio general
Hielera		Proveedor de laboratorio general
Pipeta (20 µl)		Proveedor de laboratorio general
Pipeta (200 µl)		Proveedor de laboratorio general
Pipeta (1000 µl)		Proveedor de laboratorio general
Frigorífico, entre 2 y 8 °C		Proveedor de laboratorio general
Cubo, baños de agua*		Proveedor de laboratorio general

* Utilice un cubo que pueda alojar dos cartuchos de reactivos y el nivel de agua apropiado. Por ejemplo, $61 \text{ cm} \times 91,4 \text{ cm} \times 25,4 \text{ cm}$ (24 in $\times 36 \text{ in} \times 10 \text{ in}$).

Directrices para el agua de laboratorio

Utilice siempre agua de laboratorio o agua desionizada para llevar a cabo los procedimientos del instrumento. No utilice nunca agua corriente. Utilice solamente los siguientes tipos de agua o equivalentes:

- Agua desionizada
- Illumina PW1
- Agua de 18 megaohmios (MΩ)
- Agua Milli-Q
- Agua Super-Q
- Agua de biología molecular

Configuración del sistema

Esta sección proporciona instrucciones para configurar el instrumento, que incluyen descripciones de los menús del instrumento y los ajustes que contienen.

Puesta en servicio del instrumento

La primera vez que se enciende el sistema, se ejecuta NVOS con una serie de pantallas para guiarle en la primera configuración. La primera configuración incluye realizar una verificación del sistema para confirmar el rendimiento del instrumento y configurar los ajustes del sistema.

1. Pulse el lado de encendido () del interruptor de alimentación en la parte trasera del instrumento.



2. Espere hasta que el botón de encendido en el lado derecho del instrumento se encienda en color azul y, a continuación, pulse el botón de encendido.



- 3. Espere hasta que el sistema operativo se haya cargado completamente. Utilice el icono NVOS para ejecutar el software de control. Una vez inicializado el sistema, se muestra una pantalla de inicio de sesión.
- 4. Introduzca el nombre de usuario y la contraseña del administrador proporcionados por su representante de Illumina en el momento de la instalación.

Acceso remoto

Puede accederse a la interfaz del instrumento tanto en el mismo instrumento como de forma remota utilizando un navegador compatible. Para acceder al instrumento de forma remota, utilice la dirección y la información de la cuenta de usuario proporcionadas por su representante de Illumina. Los navegadores compatibles son Chrome/Chromium, Edge, Firefox y Safari.

Menú Configuración

Acceda a los ajustes siguientes utilizando el icono de menú en la parte superior izquierda de cualquier pantalla.

Ajuste	Descripción	Menú integrado en el instrumento	Menú Navegador
Acerca de DRAGEN	Vea información sobre Servidor DRAGEN, que incluye: • Versiones de DRAGEN instaladas • Información de licencia • Número de serie FPGA	X	X
Acerca del instrumento	 Vea información sobre el instrumento, que incluye: Nombre del instrumento Versión de NVOS Número de serie Espacio disponible DRAGEN version (Versión de DRAGEN) 	Х	
Registro de auditoría	 Vea los registros de usuarios, que incluyen: Nombre de usuario Tipo de acción Descripción de la acción Fecha y hora de la acción 	X	X

Ajuste	Descripción	Menú integrado en el instrumento	Menú Navegador
DRAGEN	Editar los ajustes de Servidor DRAGEN. Consulte <i>Servidor</i> <i>DRAGEN Configuración</i> en la página 42 para obtener más información.	Х	Х
Almacenamiento externo para el análisis	Configuración de almacenamiento externo.	Х	×
Emparejamiento del instrumento	Empareja el instrumento con el Servidor DRAGEN.	Х	
Configuración del instrumento	Ver y editar los ajustes globales, de RUO y DIV.	Х	
Process Management (Administración de procesos)	Gestionar el espacio en disco.	Х	
Gestión de usuarios	Ver y editar la información de usuario. Consulte <i>Cuentas de usuario</i> en la página 38 para obtener más información.	Х	Х

Process Management (Administración de procesos)

La pantalla Process Management (Administración de procesos) es accesible desde el menú de configuración del instrumento. Utilice la pantalla para supervisar el progreso de los experimentos y gestionar el espacio en disco. No elimine nunca archivos y carpetas directamente de C:\.

La pantalla Process Management (Administración de procesos) muestra el espacio disponible en disco, el espacio utilizado en el CE y la unidad C:\, así como el estado de los experimentos que utilizan espacio en disco. Las columnas Run Date (Fecha de experimento) y Run Name (Nombre de experimento) identifican cada experimento. Para cada experimento, la pantalla Process Management (Administración de procesos) enumera el estado de los siguientes procesos:

- Run Status (Estado del experimento): Se basa en el procesamiento de archivos CBCL.
- Servidor DRAGEN: Se basa en la transferencia de archivos al Servidor DRAGEN para NovaSeq 6000Dx de Illumina.
- **Network** (Red): Se basa en la transferencia de archivos mediante el uso del Servicio de copia universal.

Proceso	lcono	Descripción
Run Status (Estado del experimento)	e*** Running	El experimento está en curso.
	Complete	El experimento ha finalizado la secuenciación o el análisis.
Servidor Contraction DRAGEN Uploading		Se están cargando los archivos al Servidor DRAGEN.
	Complete	Se cargan todos los archivos al Servidor DRAGEN.
Red	copying	Se están copiando los archivos a la carpeta de resultados de la red.
	Complete	Se han copiado correctamente todos los archivos a la carpeta de resultados de la red.
	N/A	No es aplicable porque el experimento no está configurado para cargarse en una carpeta de resultados de red o se desconoce el estado de carga.

Tabla 15 Iconos de estado de la administración de procesos

Para más información sobre la solución de problemas de administración de procesos, consulte *Solución de problemas* en la página 78.

Cuentas de usuario

La configuración de las cuentas de usuarios se encuentra en la pantalla User Management (Gestión de usuarios), a la que se accede mediante el menú Settings (Configuración) en el instrumento y mediante un navegador. Solo los administradores pueden acceder a la pantalla User Management (Gestión de usuarios). Debe haber iniciado sesión para utilizar el instrumento.

Permisos de aplicación

No puede utilizar una aplicación que no le haya sido asignada.

Contraseñas

Por defecto, las contraseñas deben restablecerse al menos cada 180 días. Los usuarios administradores pueden configurar los ajustes para requerir restablecer las contraseñas con mayor frecuencia. Cambie su contraseña en la pantalla User Management (Gestión de usuarios) o seleccionando su icono de usuario en la parte superior derecha de la interfaz. Illumina no almacena ni mantiene las credenciales de inicio de sesión de los usuarios. La seguridad de

las contraseñas es responsabilidad del usuario.

Roles de usuario

Por defecto, a las cuentas de usuario nuevas se les asigna el rol de usuario. Los roles de administrador y operador proporcionan permisos adicionales.

Tabla 16 Permisos de usuario

Permisos	Administrator (Administrador)	Operador	Usuario
Otorgar acceso a las funciones de administrador	Х		
Configurar la configuración y los permisos de la aplicación	Х		
Emparejar instrumento y servidor	Х		
Iniciar lavado	Х	Х	
Configurar e iniciar experimentos de secuenciación	Х	Х	
Ver experimento de secuenciación en curso	Х	Х	Х
Salir y minimizar la aplicación	Х		
Acceder a la pantalla Process Management (Administración de procesos)	Х	Х	
Acceder a la configuración del instrumento	Х		
Apagar el instrumento	Х	Х	
Cambiar las contraseñas olvidadas	Х		
Ver el registro de auditoría del instrumento	Х		

Configuración del instrumento

La pantalla Instrument Settings (Configuración del instrumento) contiene tres pestañas: Global Settings (Ajustes globales), IVD Settings (Ajustes DIV) y RUO Settings (Ajustes RUO).

Ajustes globales

Los ajustes globales incluyen las siguientes opciones:

- Instrument mode (Modo del instrumento): Controla si los usuarios pueden alternar entre los modos DIV y RUO.
- **Proactive Support** (Asistencia de Proactive): Alterna la monitorización de asistencia de Proactive.
- User Idle Timeout (Tiempo de espera de inactividad del usuario): Controla la cantidad de tiempo durante la que el instrumento puede estar inactivo antes de cerrar la sesión de los usuarios.

Ajustes DIV

Los ajustes DIV se aplican cuando el instrumento está en modo DIV.

- **Run Setup** (Configuración del experimento): Seleccione el modo de experimento. Para obtener más información, consulte *Configuración del modo de experimento* en la página 40.
- **Output Location** (Ubicación de resultados): Seleccione la ubicación del servidor para la salida de datos. Consulte *Generación y almacenamiento de datos* en la página 41 para más información sobre la salida de datos.

Ajustes RUO

Los ajustes RUO incluyen las siguientes opciones:

- **Run Setup** (Configuración del experimento): Seleccione el modo de experimento. Para obtener más información, consulte *Configuración del modo de experimento* en la página 40.
- **Default Workflow Type** (Tipo de flujo de trabajo predeterminado): Controla si el flujo de trabajo NovaSeq Xp se ha establecido como tipo de flujo de trabajo predeterminado. NovaSeq Xp solo está disponible en modo RUO.
- **Output Location** (Ubicación de resultados): Seleccione la ubicación del servidor para la salida de datos. Consulte *Generación y almacenamiento de datos* en la página 41 para más información sobre la salida de datos.
- **BaseSpace Sequence Hub Proactive Support** (Asistencia de Proactive): Alterna la monitorización de asistencia de Proactive.

Configuración del modo de experimento

El modo de experimento se selecciona utilizando el botón de alternancia en las pantallas Sequencing (Secuenciación), Runs (Experimentos) y Applications (Aplicaciones). Seleccione **Instrument Settings** (Configuración del instrumento) en el menú principal para establecer el modo de experimento antes de planear o iniciar un experimento.

Illumina Run Manager

Planear un experimento en el Servidor DRAGEN.

- 1. En la pantalla Instrument Settings (Configuración del instrumento) vaya a la pestaña RUO Settings (Ajustes RUO) o a la pestaña IVD Settings (Ajustes DIV), dependiendo del modo que se desee.
- 2. Seleccione la opción Servidor DRAGEN.
- 3. Seleccione Save (Guardar).

Modo de experimento manual

Cree un experimento introduciendo manualmente la información del experimento en el software del instrumento. La planificación del experimento manual solo está disponible en modo RUO.

- 1. En la pantalla Instrument Settings (Configuración del instrumento), vaya a la pestaña RUO Settings (Ajustes RUO).
- 2. Seleccione la opción de configuración manual del experimento.
- 3. Introduzca los ajustes de índices y seleccione **Save** (Guardar).

Generación y almacenamiento de datos

La siguiente tabla contiene los tipos de archivo y los requisitos mínimos de almacenamiento para un experimento de secuenciación y el análisis secundario. La tabla detalla los requisitos para un experimento con una celda de flujo doble según cada tipo de celda de flujo.

En los experimentos con una sola celda de flujo, los requisitos de espacio mínimo corresponden a la mitad de los que se detallan en la tabla. Las configuraciones alternativas de los experimentos tienen requisitos de almacenamiento diferentes.

Tipo de archivo	S2 300 ciclos (GB)	S4 300 ciclos (GB)
CBCL	930	2800
Carpeta InterOp	2,3	7,0
FASTQ	1125	3387
BAM	1050	3160
gVCF y VCF	28	84

Las ubicaciones de almacenamiento conectadas y montadas utilizan la ruta de acceso UNC completa. No utilice letras ni enlaces simbólicos.

Ejemplo de uso de datos

La siguiente tabla ofrece un ejemplo para crear una infraestructura que admita los datos generados con el Instrumento NovaSeq 6000Dx. La tabla detalla las opciones de almacenamiento de datos para el análisis de secuenciación del genoma completo con BaseSpace Sequence Hub. El ejemplo presupone que un experimento con una celda de flujo doble de 300 ciclos con celdas de flujo S2 genera 2 TB de datos con una frecuencia de uso de 10 experimentos al mes. Los puntos de datos S4 se han extrapolado de los supuestos S2.

- Ajuste las cifras de la tabla para una menor frecuencia de uso. Si espera realizar análisis repetidos de los conjuntos de datos, aumente el almacenamiento proporcionalmente.
- Dado que la retención real de datos está sometida a las directivas locales, confirme las condiciones antes de calcular las necesidades de almacenamiento.
- Los tamaños de los experimentos varían dependiendo de múltiples factores, entre los que se incluyen la longitud y el porcentaje que supera el filtro (Pass Filter, PF). Las cifras se indican con fines orientativos sobre el intervalo relativo de tamaño de los datos.

Tipo de archivo	Período de tiempo	Número de experimentos	S2 300 ciclos (TB)	S4 300 ciclos (TB)
BAM	Mensualmente	10 experimentos/1 mes por sistema*	14	42
BAM	Anualmente	120 experimentos/1 año por sistema	168	504
VCF y gVCF	Mensualmente	10 experimentos/1 mes por sistema	0,3	0,9
VCF y gVCF	Anualmente	120 experimentos/1 año por sistema	3,6	10,8

* No se incluye el almacenamiento para el respaldo y el archivado de los datos.

Servidor DRAGEN Configuración

La pantalla About (Acerca de) Servidor DRAGEN contiene información sobre el Servidor DRAGEN, incluidos los detalles del servidor y la información de licencia. Seleccione About (Acerca de) Servidor DRAGEN en el menú Settings (Configuración) en el instrumento o utilizando un navegador.

Requisitos de red del Servidor DRAGEN

El NovaSeq 6000Dx requiere una conexión al Servidor DRAGEN. El Servidor DRAGEN y el NovaSeq 6000Dx se conectan en la red local utilizando la dirección IP independiente de cada uno. La conexión mínima de red que se requiere entre el NovaSeq 6000Dx, Servidor DRAGEN y el almacenamiento externo es 1 Gb. Se recomienda una conexión de 10 Gb para el Servidor DRAGEN y el almacenamiento externo a fin de obtener velocidades mayores de transferencia de datos. Illumina Run Manager permite poner en cola múltiples análisis en el Servidor DRAGEN.



Figura 12 NovaSeq 6000Dx-Servidor DRAGEN Red

El servidor requiere que se le asigne un nombre de dominio en el sistema de nombres de dominio (DNS) del usuario. Se recomienda, aunque es opcional, que se asignen certificados de seguridad de la capa de transporte (Transport Layer Security, TLS) al nombre de dominio del servidor para asegurar el cifrado de los datos durante su transferencia a través de la red local. Si no pueden proporcionarse certificados TLS, el sistema utilizará certificados autogenerados.

Emparejamiento del Servidor DRAGEN

Un representante de Illumina empareja el Instrumento NovaSeq 6000Dx al Servidor DRAGEN durante la configuración inicial. Utilice las instrucciones siguientes si el servidor se desconecta del instrumento. Se requiere una cuenta de administrador para completar el emparejamiento.

1. En el menú Settings (Configuración), seleccione **Instrument Pairing** (Emparejamiento del instrumento).

Se abre la ventana Instrument Pairing (Emparejamiento del instrumento).

- 2. Introduzca el nombre de dominio del servidor.
- 3. Confirme el certificado de confianza del servidor y seleccione Log In (Iniciar sesión).
- 4. Inicie sesión con una cuenta válida de administrador.
- 5. En la pantalla Confirm and Pair (Confirmar y emparejar), seleccione Pair (Emparejar).

Menú principal

El menú principal está situado en el lado izquierdo de la interfaz de usuario. El menú principal es siempre visible, excepto en el instrumento cuando hay una configuración de experimento en curso. El menú principal contiene iconos que proporcionan acceso a las ventanas siguientes:

- **Sequencing** (Secuenciación): Inicie la secuenciación o el lavado desde la pantalla Sequencing (Secuenciación). La pantalla Sequencing (Secuenciación) se muestra a todos los usuarios.
- **Runs** (Experimentos): Vea los experimentos planeados, activos y completados. Los experimentos se muestran a todos los usuarios.

• **Applications** (Aplicaciones): Vea las aplicaciones instaladas y asigne permisos de las aplicaciones a los usuarios. Las aplicaciones se muestran a los administradores a través del instrumento y del navegador.

Experimentos Pantalla

Experimentos planeados

Los experimentos planeados en el Servidor DRAGEN se muestran en la pestaña Planned (Planeados) de la pantalla Runs (Experimentos). Para editar o eliminar un experimento planeado, seleccione el experimento y a continuación seleccione Edit (Editar) o el icono de papelera. Los experimentos planeados pueden existir en uno de los estados siguientes:

- Draft (Borrador): se ha creado un experimento pero no está disponible para la secuenciación.
- **Planned** (Planeado): se ha creado un experimento y está disponible para comenzar la secuenciación.
- Needs Attention (Necesita atención): hay problemas con el experimento que requieren la intervención del usuario. Seleccione el experimento para editarlo o para desestimar el error. El estado cambia a Planned (Planeado).
- Locked (Bloqueado): en caso de que haya algún problema con el instrumento, el experimento se bloquea automáticamente. Para desbloquear un experimento, seleccione el experimento y seleccione a continuación Unlock (Desbloquear).

Experimentos activos

Cualquier experimento en curso que no haya completado todos los pasos de secuenciación y análisis se muestra como Active (Activo). Seleccione un experimento activo para ver más detalles sobre el estado o cancelar el análisis.

Los experimentos con errores que hayan impedido que se completen se muestran también en la pestaña Active (Activos). Seleccione el experimento para ver los mensajes de error y volver a poner un análisis en cola (si es posible).

Experimentos completados

Los experimentos completados han finalizado todos los pasos de secuenciación y análisis. Seleccione un experimento para ver los detalles del experimento o volver a poner un análisis en cola.

Aplicaciones

La pantalla Applications (Aplicaciones) le permite configurar los ajustes de las aplicaciones instaladas y asignar aplicaciones a los usuarios. Los campos exactos que se muestran en la pantalla Configuration (Configuración) varían dependiendo de la aplicación, pero pueden incluir los siguientes:

• Application name (Nombre de la aplicación)

- Application version (Versión de la aplicación)
- **DRAGEN version** (Versión de DRAGEN)
- Library prep kits (Kits de preparación de bibliotecas): Seleccione los kits de preparación de bibliotecas predeterminados a utilizar con la aplicación.
- Index adapter kits (Kits de adaptadores de índices): Seleccione los kits de adaptadores de índices predeterminados a utilizar con la aplicación.
- Read type (Tipo de lectura): Seleccione un tipo de lectura predeterminado.
- Read lengths (Longitudes de la lectura): Seleccione las longitudes de la lectura predeterminadas.
- **Reference genome** (Genoma de referencia): Cargue y seleccione un genoma de referencia a utilizar con la aplicación.
- **Output file formats** (Formatos de los archivos de resultados): Seleccione los formatos preferidos de los archivos de resultados.
- **Targeted regions list builder** (Creador de la lista de regiones de interés): Cargue y seleccione uno o más archivos de regiones de interés a utilizar con la aplicación. Debe habilitarse al menos un archivo para cada aplicación.
- **Systematic noise file** (Archivo de ruido sistemático): Cargue y seleccione uno o más archivos de ruido a utilizar con la aplicación. Debe habilitarse al menos un archivo para cada aplicación.

Permisos del usuario de la aplicación

Puede asignar permisos a los usuarios de la aplicación en User Management (Gestión de usuarios) o seleccionando usuarios al configurar una nueva aplicación.

Red y seguridad del instrumento

Consulte Guía de seguridad y conexión de red del ordenador de control del instrumento de Illumina para obtener más información sobre la seguridad del instrumento y las conexiones de red. Las siguientes secciones incluyen información de seguridad y red específica para el NovaSeq 6000Dx.

Illumina no instala ni proporciona asistencia técnica para establecer las conexiones de red. Revise las actividades de mantenimiento de la red para conocer posibles riesgos de compatibilidad con el Instrumento NovaSeq 6000Dx.

Conexiones de red

Siga estas directrices para instalar y configurar una conexión de red:

- Establezca una conexión específica de 1 Gb entre el instrumento y su sistema de gestión de datos. Establezca esta conexión directamente o a través de un conmutador de red.
- El ancho de banda necesario para una conexión es el indicado a continuación.
 - 200 Mb/s por instrumento para cargas de la red interna.

- 200 Mb/s por instrumento para cargas de la red BaseSpace Sequence Hub.
- 5 Mb/s por instrumento para cargas de datos operativos del instrumento.
- Los conmutadores deben estar gestionados.
- El equipo de red, como los conmutadores, debe tener una capacidad mínima de 1 GB por segundo.
- Calcule la capacidad total de la carga de trabajo de cada conmutador de red. El número de instrumentos conectados y el equipo auxiliar, como una impresora, pueden afectar a la capacidad.
- Si es posible, aísle el tráfico de secuenciación del resto del tráfico de la red.
- Illumina recomienda utilizar cables CAT-6 (el mínimo requerido es CAT-5e). En el paquete del instrumento se incluye un cable de red armado de 3 metros (9,8 pies) de longitud para las conexiones de red.

Conexiones del ordenador de control

Para que el sistema funcione correctamente, reserve los intervalos de direcciones IP 169.254/16 y de direcciones IPv6 fddc:65e5:66fa::*.

Figura 13 Ilustración de la red



NOTA El CE no es visible en la red del anfitrión.

Conexiones internas

Tabla 17 Conexiones internas

Conexión	Valor	Finalidad
Dominio	localhost:*	Todos los puertos para la comunicación entre anfitriones locales (localhost-to-localhost), que son necesarios para la comunicación entre procesos.

Conexión	Valor	Finalidad
Puerto	5555	Interfaz del controlador de hardware
	9030	Análisis en tiempo real
	8080	Software operativo del NovaSeq
	29644	Servicio de copia universal
	22, 80, 111, 443, 623, 2049, 5900, 8889, 9980, fddc:65e5:66fa::1/48, fddc:65e5:66fa::2/48	Transferencia de datos
	29000	Orquestador de instrumentos

Conexiones de salida

La información de conexión de salida incluye la información de dominio y dirección IP para configurar el acceso a los dominios de BaseSpace Sequence Hub, Illumina Proactive, actualizaciones de software y cargas de datos de experimentos y rendimiento.

Tabla 18	Direcciones	IP	y	puertos
----------	-------------	----	---	---------

Componente	ТСР	UDP	IP
BMC	22,80,443,623,5900,8889	623	169.254.0.2
NFS	111,2049	111,2049	fddc:65e5:66fa::2/48 fddc:65e5:66fa::1/48
CE	22,9980	N/D	169.254.0.1
Controladores de hardware	N/D	N/D	169.254.x.x/16

Software antivirus

Puede utilizar un software antivirus de su elección para proteger el ordenador de control del instrumento de los virus.

Para evitar que se produzcan interrupciones o pérdidas de datos, configure el software antivirus como se indica a continuación.

• Establezca análisis manuales. No habilite los análisis automáticos.

- Lleve a cabo análisis manuales solamente cuando el instrumento no esté en uso.
- Establezca la descarga de actualizaciones sin la autorización del usuario, pero no la instalación.
 - Instale el software antivirus solo cuando el instrumento no esté en uso y pueda reiniciar el ordenador.
 - No permita que el ordenador se reinicie automáticamente tras la instalación.
- Excluya las unidades de datos y el directorio de la aplicación de cualquier protección del sistema de archivos en tiempo real.

Protocolo

Esta sección proporciona instrucciones paso a paso sobre cómo preparar los consumibles y configurar un experimento de secuenciación. Revise toda la información de *Cumplimiento y seguridad* en la página 8 antes de comenzar un experimento de secuenciación.

Crear un experimento de secuenciación

Utilice los siguientes pasos para crear un experimento utilizando Illumina Run Manager en modo DIV o RUO. Como alternativa, seleccione **Import Run** (Importar experimento) en la pestaña Planned (Planeados) de la página Runs (Experimentos) e importe una hoja de muestras. Cree nuevos experimentos ya sea en el instrumento o accediendo al Illumina Run Manager con un navegador en un ordenador con conexión a la red.

- NOTA La información exacta requerida por cada aplicación de análisis difiere, pero el proceso para crear un experimento incluye los pasos siguientes.
- 1. En la pestaña Planned (Planeados) de la pantalla Runs (Experimentos), seleccione **Create Run** (Crear experimento).
- 2. Seleccione una aplicación y, a continuación, seleccione Next (Siguiente).
- 3. Continúe por las pantallas de configuración. Dependiendo de su aplicación, las pantallas que aparecen pueden incluir las siguientes:
 - **Run Settings** (Ajustes de configuración del experimento): introducción de los parámetros del experimento.
 - Sample Data (Datos de la muestra): introducción de los datos de la muestra manualmente o importando un archivo CSV que contenga la información de la muestra. Los nombres de la muestra deben ser únicos.
 - Analysis settings (Configuración de los ajustes del análisis): introducción de los ajustes para el análisis.
- En la pantalla Review (Revisar), revise la información del experimento y seleccione Save (Guardar).
 El experimento se añade a la parte superior de la lista de experimentos en la pestaña Planned (Planeados).

Preparación de consumibles

Descongelación de cartuchos de SBS y de grupos



PRECAUCIÓN

El uso de agua caliente para descongelar reactivos podría reducir la calidad de los datos o provocar fallos en el experimento.

- 1. Si hay un experimento de secuenciación en curso, asegúrese de que ambas partes del instrumento estén disponibles cuando se complete la descongelación.
- Retire los cartuchos de SBS y de grupos que estén almacenados a una temperatura de entre -25 °C y -15 °C.
- Coloque cada cartucho en una gradilla de descongelación de rejilla.
 Las gradillas se suministran con el instrumento y evitan vuelcos en el baño de agua.

Figura 14 Cartuchos en gradillas de descongelación de rejilla



4. Utilice la siguiente tabla para determinar la duración de la descongelación.

Descongele los cartuchos de SBS y de grupos en un baño de agua a temperatura ambiente (19 °C a 25 °C) del modo indicado a continuación. Sumerja los cartuchos aproximadamente hasta la mitad.

Cartucho	Duración de la descongelación
Cartucho de SBS S2	4 horas
Cartucho de grupos S2	Hasta 2 horas
Cartucho de SBS S4	4 horas
Cartucho de grupos S4	Hasta 4 horas



PRECAUCIÓN

Si no se inicia la secuenciación en las cuatro horas posteriores a la descongelación de los cartuchos de reactivos, puede producirse una disminución de la calidad de los datos.

- 5. Seque por completo las bases de los cartuchos utilizando papeles absorbentes. Seque entre los pocillos de forma que se elimine toda el agua.
- 6. Inspeccione los cierres metálicos en busca de agua. Si hay agua, séquela con una toallita sin pelusa.
- 7. Inspeccione la parte inferior de cada cartucho para asegurarse de que los depósitos no tengan hielo, lo que indica que los reactivos están descongelados.
- 8. Voltee cada cartucho 10 veces para mezclar los reactivos.



PRECAUCIÓN

No voltear completamente los cartuchos puede dar lugar a una disminución de la calidad de los datos.

9. Golpee suavemente el fondo de cada cartucho en la mesa para reducir las burbujas de aire.

Carga del tubo de bibliotecas

- Sin alterar la biblioteca en el fondo del tubo, introduzca el tubo de bibliotecas destapado que contiene la agrupación de bibliotecas desnaturalizadas y diluidas en la posición Library Tube (Tubo de bibliotecas) (la n.º 8) del cartucho de grupos.
- 2. Inserte el tubo de bibliotecas en la posición n.º 8 del cartucho de grupos.

Figura 15 Tubo de bibliotecas destapado en la posición n.º 8



Vaciado de botellas de reactivos utilizados

Siga las instrucciones que aparecen a continuación para vaciar las botellas de reactivos utilizados en *cada* experimento de secuenciación. Si su sistema está configurado para enviar reactivos utilizados al exterior, la botella pequeña recoge los reactivos utilizados y debe vaciarse en cada experimento de secuenciación. La botella grande debe estar colocada.

- 1. Retire y vacíe la botella pequeña de reactivos utilizados como se indica a continuación.
 - a. Levante la palanca y retire la botella pequeña de reactivos utilizados del hueco. Sujete la botella por los lados.
 - b. Retire la tapa roscada del soporte correspondiente situado en la parte delantera de la botella.

- c. Cierre la abertura de la botella con la tapa para evitar que se derrame.
- d. Mantenga el contenido apartado del contenido de la otra botella y deséchelo de conformidad con las normativas aplicables de su región.
- e. Vuelva a colocar la botella destapada en el hueco y baje la palanca. Guarde la tapa en el soporte destinado a tal efecto.
- 2. Retire y vacíe la botella grande de reactivos utilizados como se indica a continuación.
 - a. Con la ayuda del mango superior, retire la botella grande de reactivos utilizados del lado izquierdo del cajón de tampones.
 - b. Retire la tapa roscada del soporte correspondiente situado en la parte delantera de la botella.
 - c. Cierre la abertura de la botella con la tapa para evitar que se derrame.
 - d. Deseche el contenido de conformidad con las normativas pertinentes de su región. Sujete los mangos durante el vaciado.
 - e. Vuelva a colocar la botella destapada en el cajón de tampones. Guarde la tapa en el soporte destinado a tal efecto.

Figura 16 Devolución de la botella vacía



3. Utilice un nuevo par de guantes sin talco.



PRECAUCIÓN

Póngase siempre un nuevo par de guantes tras manipular la botella de reactivos utilizados.

4. Cierre el cajón de tampón y, después, cierre las puertas del compartimento de líquidos.



PRECAUCIÓN

Si no vacía las botellas de reactivos utilizados puede interrumpir el experimento y producirse un desbordamiento, lo que dañaría el instrumento y constituiría un riesgo para la seguridad.

Preparación de la celda de flujo

- 1. Extraiga un nuevo embalaje de celda de flujo en caja de su almacenamiento a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.
- 2. Deje el embalaje sellado de celda de flujo a temperatura ambiente (19 °C a 25 °C) durante 10 a 15 minutos.

Utilice la celda de flujo en un plazo de 12 horas desde su extracción del embalaje.

Carga de consumibles

Utilice las instrucciones siguientes para iniciar la configuración del experimento y la carga de consumibles.

- 1. En el menú principal, seleccione **Sequence** (Secuenciar) y, después, elija una sola celda de flujo o una celda de flujo doble del modo indicado a continuación.
 - A+B: Configura un experimento con una celda de flujo doble.
 - A: Configura una sola celda de flujo en el lado A.
 - **B**: Configura una sola celda de flujo en el lado B.

El sistema inicia la configuración del experimento, que comienza con la carga de la celda de flujo.

2. Seleccione **OK** (Aceptar) para aceptar la advertencia y abrir la puerta de la celda de flujo.



PRECAUCIÓN

Mantenga la superficie libre durante el experimento de secuenciación y evite apoyarse en el instrumento. Cualquier presión sobre la puerta de la celda de flujo puede hacer que se abra, lo que detendría el experimento. Los experimentos detenidos no se pueden reanudar.

Carga de la celda de flujo

- 1. Si está presente, retire la celda de flujo del experimento anterior.
- 2. Si hay partículas visibles en la platina de la celda de flujo, con un paño humedecido en alcohol, límpiela entera, incluidas la interfaz de fluídica y la superficie de vidrio del objetivo de alineación óptica. Séquela mediante una toallita sin pelusa.

Figura 17 Platina de la celda de flujo



- 3. Extraiga la celda de flujo del embalaje del modo indicado a continuación.
 - a. Póngase un par de guantes nuevos sin polvo para evitar contaminar la superficie de vidrio de la celda de flujo.
 - b. Con el paquete en una superficie plana, abra el envase metálico tirando de la lengüeta de la esquina.
 - c. Quite el retenedor de plástico transparente que cubre la celda de flujo.
 - d. Extraiga la celda de flujo del embalaje. Sujete la celda de flujo por los laterales sin tocar el vidrio ni las juntas de la parte inferior.
 - e. Si hay partículas visibles en alguna de las superficies de vidrio, límpiela con un paño sin pelusa humedecido en alcohol y séquela con una toallita de laboratorio sin pelusa.
 - f. Deseche el embalaje de manera adecuada.
- 4. Alinee la celda de flujo con respecto a las cuatro abrazaderas levantadas y colóquela en la platina de la celda de flujo.

Figura 18 Celdas de flujo cargadas alineadas sobre las abrazaderas



Seleccione Close Flow Cell Door (Cerrar puerta de la celda de flujo).
 La puerta de la celda de flujo se cierra, se comprueban los sensores y el RFID, y aparece en la pantalla el ID de la celda de flujo.

Carga de los cartuchos de SBS y de grupos

- 1. Abra las puertas del compartimento de líquidos y, a continuación, la puerta del refrigerador de reactivos.
- 2. Extraiga los cartuchos SBS y de grupos usados del experimento anterior si todavía no lo ha hecho. Los cierres metálicos de los cartuchos utilizados están perforados.
- Deseche el contenido no usado de conformidad con las normativas aplicables.
 Para desechar de forma segura la posición n.º 30 del cartucho de grupos, consulte Desacople de la posición n.º 30 en la página 61.
- 4. Cargue los cartuchos preparados en el cajón del refrigerador de reactivos como se indica a continuación, de modo que las etiquetas Insert (Insertar) estén orientadas hacia la parte trasera del instrumento.
 - Coloque el cartucho de SBS (etiqueta gris) en la posición izquierda.
 - Coloque el cartucho de grupos (etiqueta naranja) que contiene el tubo de bibliotecas destapado en la posición derecha.

Figura 19 Cartuchos de reactivos cargados



5. Deslice el cajón para introducirlo en el refrigerador de reactivos y, seguidamente, cierre la puerta de este.

Se comprueban los sensores y los RFID. Los ID del tubo de bibliotecas y los dos cartuchos aparecerán en la pantalla.

Carga del cartucho de tampones

- 1. Tire del mango de metal para abrir el cajón de tampones.
- 2. Retire el cartucho de tampones utilizados del lado derecho del cajón de tampones. Los cierres metálicos del cartucho de tampones utilizados están perforados.
- 3. Coloque un nuevo cartucho de tampones en el cajón de forma que la etiqueta Illumina esté orientada a la parte delantera del cajón. Alinee el cartucho con las guías levantadas en la base y los lados del cajón.

Una vez que el cartucho de tampones esté cargado y debidamente fijado, puede cerrarse el cajón.

Figura 20 Carga del cartucho de tampones

- 4. Si las dos botellas de reactivos utilizados se han vaciado, seleccione la casilla de verificación que sirve para dejar constancia de que ambas botellas de reactivos utilizados están vacías.
 - NOTA Si no vacía las botellas de reactivos utilizados puede interrumpir el experimento y producirse un desbordamiento, lo que dañaría el instrumento y constituiría un riesgo para la seguridad.
- 5. Cuando se hayan añadido los consumibles, seleccione **Run Selection** (Selección del experimento) para continuar.

Seleccionar e iniciar el experimento

El instrumento lee el ID del tubo de bibliotecas y busca un experimento planeado coincidente.

- Si se encuentra un experimento planeado que coincida con el ID del tubo de bibliotecas para cada lado que se utilice, se omite la selección del experimento. Seleccione **Review** (Revisar) para continuar.
- Si no hay un experimento coincidente para uno o ambos lados, seleccione Run Selection (Selección del experimento), y a continuación seleccione uno o más experimentos planeados. No puede seleccionarse el mismo experimento planeado en ambos lados.
- 3. Una vez seleccionados uno o más experimentos, seleccione **Pre-Run Checks** (Comprobaciones previas al experimento).
- Espere aproximadamente 5 minutos a que finalicen las comprobaciones previas al experimento. El experimento comienza de manera automática después de finalizar correctamente las comprobaciones.

NOTA Para evitar un sobrellenado del disco duro, no copie ningún dato en C:\ después de iniciar el experimento.

Errores de la comprobación previa al experimento

Consulte *Solución de problemas* en la página 78 (Solución de problemas) para obtener más información sobre los errores en las comprobaciones previas al experimento.

- 1. Si las comprobaciones previas al experimento fallan debido a un error del sensor, como que la celda de flujo no se detecta, debe salir y reiniciar el flujo de trabajo.
- Para otros fallos de las comprobaciones previas al experimento, seleccione Retry (Reintentar) para reiniciar una comprobación con error o Retry All (Reintentar todo) para reiniciar todas las comprobaciones.

Hay que solucionar los errores antes de poder iniciar el experimento.

- 3. Seleccione el icono de Error para ver los detalles del error.
- 4. Si falla la comprobación de alineación, solucione los errores de la siguiente manera.
 - a. Seleccione **Reload** (Volver a cargar) y, a continuación, **OK** (Aceptar) para regresar a la pantalla Load (Cargar).
 - b. Retire cualquier elemento de encima del instrumento y, después, seleccione **OK** (Aceptar). Se abre la puerta de la celda de flujo.
 - c. Vuelva a cargar la celda de flujo y, después, seleccione **Run Setup** (Configuración del experimento).
 - d. Navegue por las pantallas para volver a leer cada RFID y regrese a la pantalla Pre-Run Checks (Comprobaciones previas al experimento).
 - e. Vuelva a realizar la comprobación.

Supervisión del progreso del experimento

Los siguientes detalles se muestran en la pantalla Sequencing (Secuenciación) mientras el experimento está en curso. Se accede a la pantalla Sequencing (Secuenciación) a través del menú principal.

- Estado de los pasos individuales del experimento
- **Time to completion** (Tiempo hasta la finalización): Muestra la fecha y la hora (aaaa-mm-dd hh:mm) de finalización del experimento.
- **Run progress** (Progreso del experimento): El paso actual del experimento. El tamaño de la barra de progreso no es proporcional a la velocidad del experimento de cada paso.
- Q-scores (Puntuaciones Q): La distribución de las puntuaciones de calidad (puntuaciones Q).
- Intensity (Intensidad): El valor de las intensidades de grupos del percentil 90 para cada placa. Los colores de los diagramas indican los canales verde y rojo.

- **Clusters passing filter (%)** (Grupos que superan el filtro [%]): El porcentaje de grupos que superan el filtro.
- **Projected Total Yield (GB)** (Rendimiento total proyectado [GB]): El rendimiento proyectado para el experimento de celda de flujo. Si se seleccionan los datos de medición por carril (H), los números mostrados representan el rendimiento actual por carril y se actualizan en cada ciclo durante el experimento.
- Q30: El porcentaje de llamada de bases para el experimento que tiene una puntuación $Q \ge 30$.

lconos de estado

Un icono de estado en la interfaz de NVOS indica el estado del experimento. Un número en el icono indica el número de condiciones para un estado.

Cuando cambia el estado de un experimento, el icono parpadea. Seleccione el icono para visualizar una descripción del estado. Seleccione **Acknowledge** (Aceptar) para que desaparezca el mensaje y a continuación **Close** (Cerrar) para salir del cuadro de diálogo.

lcono de estado	Nombre de estado	Descripción
	Estado correcto	El sistema está normal.
	Procesando	El sistema está procesando.
A	Advertencia	Se ha producido una advertencia y es necesaria su atención. Las advertencias no detienen un experimento ni requieren una acción antes de continuar.
0	Error	Se ha producido un error. Los errores precisan una acción antes de continuar con el experimento.
i	Información	Hay un mensaje no crítico disponible.

Criterios de medición del experimento

El software muestra los datos de medición que se hayan generado durante el experimento. Estos datos aparecen en forma de diagramas, gráficos y tablas según los datos generados por RTA3 y escritos en los archivos InterOp.

La generación de grupos dura aproximadamente 2 horas, y a continuación comienza la secuenciación con el ciclo 1. Los datos se actualizan conforme avanza la secuenciación. Los grupos que superan el filtro, el rendimiento y las puntuaciones de calidad están disponibles después del ciclo 26. Antes del ciclo 26, no se rellena ningún valor y estos se designan como no aplicables.

Inicio escalonado de experimentos

Puede configurar e iniciar un experimento en el lado inactivo del instrumento mientras haya un experimento en curso en el otro lado. Esta configuración se denomina "inicio escalonado". Los experimentos escalonados se configuran a horas concretas durante un experimento, como se indica mediante los siguientes mensajes del temporizador de cuenta atrás de inicio.

- Run Start: Available (Inicio de experimento: Disponible): el inicio escalonado está disponible. Se muestran la fecha y la hora en que el inicio escalonado dejará de estar disponible. Seleccione Sequence (Secuenciar) para iniciar un nuevo experimento escalonado después de que haya terminado el ciclo actual.
- **Run Start: Unavailable** (Inicio de experimento: No disponible): el inicio escalonado no está disponible. Se muestran la fecha y la hora en que el inicio escalonado pasará a estar disponible en el otro lado del instrumento.
- Waiting... (Esperando...): si se intenta un nuevo experimento cuando el inicio escalonado no está disponible, el estado cambia a Esperando y la fecha y la hora muestran la hora aproximada en la que el instrumento estará preparado para el nuevo experimento. El instrumento continúa con la configuración del experimento cuando el inicio escalonado esté disponible.

Cuando configure el experimento nuevo, el software automáticamente pondrá en pausa y reanudará el experimento en la celda de flujo adyacente según sea necesario. El sistema se coloca en estado seguro cuando se pone en pausa.

Procedimiento

- En la pantalla de inicio, seleccione Sequence (Secuenciar) y, a continuación, seleccione A o B. El lado seleccionado debe ser el lado actualmente inactivo.
- Espere a que se pause el experimento en la celda de flujo adyacente. Para cancelar el nuevo experimento y evitar ponerlo en pausa, seleccione Cancel (Cancelar).
 Si el experimento adyacente está realizando una generación de grupos, una resíntesis "paired-end", una adquisición de imágenes o un lavado, el software finalizará el paso actual sin ponerlo en pausa.
- 3. Cuando el experimento adyacente se haya puesto en pausa y se abra la puerta de la celda de flujo, configure el nuevo experimento.

Una vez se inicie el nuevo experimento, el experimento en pausa se reanuda automáticamente y, a continuación, empieza el nuevo experimento.

Después de la secuenciación

Las secciones siguientes proporcionan instrucciones sobre los siguientes pasos una vez completada la secuenciación.

Lavado automático posterior al experimento

Al término de la secuenciación, el software inicia un lavado automático posterior al experimento que dura aproximadamente 80 minutos. El sistema dispensa hipoclorito sódico (NaOCI) al 0,24 % desde la posición n.º 17 y lo diluye hasta el 0,12 %. El NaOCI al 0,12 % se dispensa a las posiciones de las bibliotecas y los reactivos ExAmp a través de la celda de flujo y, a continuación, a las botellas de reactivos utilizados. El lavado enjuaga la cadena molde del sistema para evitar la contaminación cruzada.

Cuando el lavado finaliza, el sistema se coloca en un lugar seguro y el botón de inicio se activa. Deje los consumibles en su sitio hasta el siguiente experimento. Después del lavado, los dispensadores permanecen en los cartuchos de SBS y de grupos con el fin de evitar que entre aire en el sistema. Los dispensadores del cartucho de tampones se elevan para que las botellas de reactivos utilizados puedan vaciarse. Se bombea a continuación tampón de lavado por todos los conductos para eliminar del sistema el NaOCI y los reactivos.

NOTA Si se produce un error durante un lavado automático posterior al experimento y este se queda por terminar, hay que realizar un lavado de mantenimiento.

Desacople de la posición n.º 30

El depósito en la posición n.º 30 del cartucho de grupos contiene formamida. Se retira del cartucho de grupos utilizado y se desecha por separado.



PRECAUCIÓN

Este conjunto de reactivos contiene sustancias químicas que pueden ser peligrosas. Evite su inhalación, ingestión y el contacto con la piel o los ojos, puesto que puede provocar lesiones. Utilice un equipo de protección, incluidos gafas, guantes y batas de laboratorio adecuados para el riesgo de exposición. Manipule los reactivos utilizados como residuos químicos y deséchelos de conformidad con las normativas y leyes regionales, nacionales y locales aplicables. Para obtener más información sobre seguridad, salud y medioambiente, consulte la hoja de datos de seguridad en support.illumina.com/sds.html.

- 1. Con unos guantes puestos, empuje la lengüeta de plástico con la etiqueta **Detach after use** (Desacoplar después del uso) a la derecha.
- 2. Coloque una mano o una superficie sólida debajo del depósito y presione la lengüeta de plástico transparente hacia la etiqueta de lllumina para liberar el depósito de debajo del cartucho de grupos.

NOTA Evite apilar grupos de cartuchos cuando los vaya a almacenar, ya que se podría salir el depósito por accidente.

Figura 21 Posición n.º 30 extraíble



- A. Lengüeta de plástico blanca para desacople
- B. Lengüeta de plástico transparente para liberación
- 3. Deseche el depósito de conformidad con las normativas aplicables.

Resultados de secuenciación

Durante la secuenciación, los datos se transfieren automáticamente del Instrumento NovaSeq 6000Dx al Servidor DRAGEN. Cuando finaliza el análisis primario y se ha completado la transferencia de los datos, el análisis secundario en el Servidor DRAGEN puede comenzar automáticamente utilizando las opciones de análisis definidas por la aplicación seleccionada en Illumina Run Manager. Los resultados producidos dependen de las opciones elegidas durante la configuración del experimento. Para ver los resultados de un experimento, seleccione el nombre del experimento que desee en la pestaña Completed (Finalizados) de la pantalla Runs (Experimentos). Puede encontrar también los archivos de resultados en la ubicación especificada en la pantalla Instrument Settings (Configuración del instrumento).

Análisis en tiempo real

El Instrumento NovaSeq 6000Dx ejecuta RTA3, una implementación del software Análisis en tiempo real, en el motor informático (CE) del instrumento. RTA3 extrae las intensidades de las imágenes recibidas de la cámara, realiza la llamada de bases, asigna una puntuación de calidad a las llamadas de bases, se alinea con PhiX y genera informes de datos en archivos InterOp.

Para optimizar el tiempo de procesamiento, RTA3 almacena información en memoria. Si se interrumpe RTA3, el procesamiento no se reanuda y se pierden los datos del experimento que se estén procesando en la memoria.

Entradas RTA3

RTA3 requiere las imágenes de las placas contenidas en la memoria del sistema local para su procesamiento. RTA3 recibe información del experimento y comandos del NVOS.

Salidas RTA3

Las imágenes de cada canal de color se transfieren en memoria a RTA3 como placas. A partir de estas imágenes, RTA3 produce un conjunto de archivos de filtro y archivos de llamada de bases con puntuación de calidad. Todos los demás conjuntos admiten archivos de resultados.

Tipo de archivo	Descripción
Archivos de llamada de bases	Cada placa que se analiza se incluye en un archivo de llamada de bases concatenado (*.cbcl). Las placas del mismo carril y superficie se agregan a un archivo CBCL para cada carril y superficie.
Archivos de filtro	Cada placa produce un archivo de filtro (*.filter) que especifica si un grupo pasa filtros.

RTA3 ofrece datos en tiempo real sobre la calidad del experimento almacenados como archivos InterOp, que son archivos binarios de resultados que contienen datos de medición sobre placas, ciclos y niveles de lectura.

Gestión de errores

RTA3 crea archivos de registro y los guarda en la carpeta de registros. Los errores se registran en un archivo de texto con formato *.log.

Los archivos de registro siguientes se transfieren a la ubicación de destino de los resultados finales tras completar el procesamiento:

- info_00000.log contiene un resumen de los eventos importantes del experimento.
- error_00000.log enumera los errores que se han producido durante un experimento.
- warning_00000.log enumera las advertencias que se han producido durante un experimento.

Placas de la celda de flujo

Las placas son pequeñas áreas de adquisición de imágenes en la celda de flujo. La cámara toma una imagen de cada sector, que el software divide en placas para el procesamiento de RTA3. El número total de placas depende de la cantidad de imágenes de carriles, sectores y superficies que se adquieran en la celda de flujo.

- Las celdas de flujo S2 tienen un total de 1408 placas.
- Las celdas de flujo S4 tienen un total de 3744 placas.

Componente de la celda de flujo	S2	S4	Descripción
Carriles	2	4	Un carril es un canal físico con puertos de entrada y salida.
Superficies	2	2	Las imágenes de las celdas de flujo S2 y S4 se adquieren en dos superficies: la superior y la inferior. En primer lugar, se adquieren imágenes de la superficie superior de una placa.
Sectores por carril	4	6	Un sector es una columna del carril de una celda de flujo que la cámara captura como una imagen leída.
Placas por sector	88	78	Una placa es una porción de un sector y describe un área de la celda de flujo cuya imagen se ha adquirido.
Total de placas generadas	1408	3744	Carriles × superficies × sectores × placas por cada sector equivale al número total de placas.

El nombre de la placa contiene un número de cinco dígitos que representa la posición de la placa en la celda de flujo. Por ejemplo, el nombre de placa 1_1205 indica la superficie superior del carril 1, el sector 2 y la placa 5.

- El primer dígito es el número de carril:
 - 1 o 2 para una celda de flujo S2.
 - 1, 2, 3 o 4 para una celda de flujo S4.
- El segundo dígito representa la superficie: 1 para la parte superior o 2 para la inferior.
- El tercer dígito representa el número de sector:
 - 1, 2, 3 o 4 para una celda de flujo S2.
 - 1, 2, 3, 4, 5 o 6 para una celda de flujo S4.
- Los dos últimos dígitos representan el número de placa. La numeración comienza por 01 en el extremo de salida de la celda de flujo hasta 88 o 78 en el extremo de entrada.
 - De 01 a 88 para una celda de flujo S2.
 - De 01 a 78 para una celda de flujo S4.

Flujo de trabajo de análisis en tiempo real

Registro	Registra la ubicación de cada grupo en la celda de flujo de tramas.
Extracción de intensidad	Determina un valor de intensidad para cada grupo.
Corrección de hebra retrasada	Corrige los efectos de las fases de hebra retrasada y hebra adelantada.
Llamada de bases	Determina una llamada de bases por ciclo para cada grupo.
Puntuación de calidad	Asigna una puntuación de calidad a cada llamada de bases.

Registro

El registro alinea una imagen con la matriz cuadrada girada de nanopocillos en la celda de flujo de tramas. Debido a la disposición ordenada de los nanopocillos, las coordenadas X e Y para cada grupo de una placa están predeterminadas. Las posiciones de los grupos se recopilan en un archivo de ubicación de grupos (s.locs) para cada experimento.

Si se produce un error en el registro de cualquier imagen en un ciclo, no se generará ninguna llamada de bases para esa placa en ese ciclo.

Extracción de intensidad

Tras el registro, la extracción de intensidad calcula un valor de intensidad para cada nanopocillo en una imagen determinada. Si el registro falla, no es posible extraer la intensidad para dicha placa.

Corrección de hebra retrasada

Durante la reacción de secuenciación, cada cadena de ADN de un grupo se amplía en una base por cada ciclo. Las fases de hebra retrasada y hebra adelantada se producen cuando una cadena queda fuera de su lugar con respecto al ciclo de incorporación.

La fase de hebra retrasada se produce cuando la incorporación de una base se atrasa.

La fase de hebra adelantada se produce cuando la incorporación de una base se avanza.

Figura 22 Fases de hebra retrasada y de hebra adelantada



- A. Lectura con una base con fase de hebra retrasada
- B. Lectura con una base con fase de hebra adelantada

RTA3 corrige los efectos de las fases de hebra retrasada y adelantada, lo que aumenta al máximo la calidad de los datos en cada uno de los ciclos del experimento.

Llamada de bases

La llamada de bases determina una base (A, C, G o T) para cada grupo de una placa determinada en un ciclo específico. Instrumento NovaSeq 6000Dx utiliza secuenciación de dos canales, que precisa solo dos imágenes para codificar los datos de cuatro bases de ADN: una imagen del canal verde y una imagen del canal rojo.

Una ausencia de llamada se identifica como N. Las ausencias de llamadas se producen cuando un grupo no supera el filtro, el registro falla o se desplaza un grupo fuera de la imagen.

Las intensidades de cada grupo se extraen de la imagen roja y de la verde y se comparan una con otra, lo que produce cuatro poblaciones diferenciadas. Cada población se corresponde con una base. El proceso de llamada de bases determina a qué población pertenece cada grupo.


Figura 23 Visualización de intensidades de grupos

Tabla 19 Llamada de bases en secuenciación de dos canales

Base	Canal rojo	Canal verde	Resultado
A	1 (encendido)	1 (encendido)	Los grupos que presentan intensidad en los canales rojo y verde.
С	1 (encendido)	0 (apagado)	Los grupos que presentan intensidad solo en el canal rojo.
G	0 (apagado)	0 (apagado)	Grupos que no presentan intensidad en una ubicación de grupos conocida.
Т	0 (apagado)	1 (encendido)	Los grupos que presentan intensidad solo en el canal verde.

Grupos que superan el filtro

Durante el experimento, RTA3 filtra los datos sin procesar para eliminar las lecturas que no satisfagan el umbral de calidad de los datos. Los grupos que se solapan o de baja calidad se eliminan.

En el caso del análisis de dos canales, RTA3 utiliza un sistema basado en la población para determinar la castidad (medición de pureza de la intensidad) de una llamada de bases. Los grupos que superan el filtro (PF) cuando solo una llamada de bases de los primeros 25 ciclos tiene un valor de castidad inferior al umbral fijado. Si se incluye, la alineación de PhiX se lleva a cabo en el ciclo 26 en un subconjunto de placas de grupos que superan el filtro. Los grupos que no superan el filtro no se alinean ni se realiza en ellos la llamada de bases.

Puntuaciones de calidad

Una puntuación de calidad (puntuación Q) es una predicción de la probabilidad de obtener una llamada de bases incorrecta. Una puntuación Q superior implica que la llamada de bases tiene una calidad mayor y es más probable que sea correcta. Tras determinar la puntuación Q, los resultados se registran en archivos CBCL.

La puntuación Q comunica brevemente pequeñas probabilidades de error. Las puntuaciones de calidad se representan como Q(X), donde X es la puntuación. En la siguiente tabla, figura la relación entre una puntuación de calidad y la probabilidad de error.

Puntuación Q, Q(X)	Probabilidad de error
Q40	0,0001 (1 entre 10 000)
Q30	0,001 (1 entre 1000)
Q20	0,01 (1 entre 100)
Q10	0,1 (1 entre 10)

Puntuación de calidad y generación de informes

Para la puntuación de calidad, se calcula un conjunto de predictores para cada llamada de bases y, a continuación, se utilizan los valores de los predictores para determinar la puntuación Q en la tabla de calidad. Las tablas de calidad se crean para proporcionar predicciones de calidad con una precisión óptima de experimentos generados mediante una configuración específica de la plataforma de secuenciación y una versión de composición química concreta.

La puntuación de calidad se basa en una versión modificada del algoritmo Phred.

Para generar la tabla Q del Instrumento NovaSeq 6000Dx, se determinaron tres grupos de llamadas de bases en función del agrupamiento de estas características predictivas específicas. Después de la agrupación de las llamadas de bases, se calculó empíricamente la tasa de error media de cada uno de los tres grupos y las puntuaciones Q correspondientes se registraron en la tabla Q junto con las características predictivas que se correlacionan con ese grupo. Como tal, solo son posibles tres puntuaciones Q con RTA3, y estas puntuaciones Q representan la tasa de error promedio del grupo. En general, esto da como resultado una puntuación de calidad simplificada, pero muy precisa. Los tres grupos de la tabla de calidad se corresponden a llamadas de bases de calidad marginal (< Q15), media (aprox. Q20) y alta (> Q30), y se les asignan puntuaciones específicas de 12, 26 y 34, respectivamente. Además, se asigna una puntuación nula de 2 en caso de ausencia de llamadas. El modelo de elaboración de informes de puntuaciones de calidad (puntuaciones Q) reduce los requisitos de espacio de almacenamiento y ancho de banda sin detrimento de la precisión o el rendimiento.

Figura 24 Puntuación Q simplificada con RTA3



Archivos de resultados de secuenciación

Tipo de archivo	Descripción, ubicación y nombre del archivo
Archivos de llamada de bases	Cada grupo analizado se incluye en un archivo de llamada de bases, agregado en un archivo para cada ciclo, carril y superficie. El archivo agregado contiene la llamada de bases y la puntuación de calidad codificada para cada grupo. Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, por ejemplo L001_1.cbcl
Archivos de ubicación de grupos	Para cada celda de flujo, un archivo binario de ubicación de grupos contiene las coordenadas X e Y para los grupos en una placa. Una disposición hexagonal que coincide con la disposición de nanopocillos de la celda de flujo define previamente las coordenadas. Data\Intensities (Datos\Intensidades) s_[lane].locs
Archivos de filtro	El archivo de filtro especifica si los grupos han superado los filtros. Estos archivos se generan en el ciclo 26 mediante el uso de 25 ciclos de datos. Para cada placa, se genera un archivo de filtro. Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[lane]_[tile].filter

Tipo de archivo	Descripción, ubicación y nombre del archivo
Archivo de información del experimento	Indica el nombre del experimento, el número de ciclos de cada lectura, si la lectura es una Lectura del índice, y el número de sectores y placas de la celda de flujo. El archivo de información del experimento se crea al inicio del experimento. [Root folder], RunInfo.xml
Archivos de vistas en miniatura	<pre>Imágenes en miniatura para el primer ciclo de cada lectura de secuenciación. Thumbnail_Images\L001\C[X.1]: Los archivos se almacenan en una subcarpeta para cada ciclo. s_[lane]_[tile]_[channel].jpg: La imagen en miniatura incluye el número de placa.</pre>

Estructura de carpetas de resultados de secuenciación

El NVOS genera el nombre de la carpeta de resultados de forma automática.

💼 Config (Configuración): parámetros de configuración del experimento.

Logs (Registros): archivos de registro que describen los pasos operativos, los análisis del instrumento y los eventos de RTA3.

E SampleSheet.csv: hoja de muestras u otro archivo adjunto, si procede.

🚞 Data (Datos)

Intensities (Intensidades)

BaseCalls (Llamadas de bases)

LOO[X]: archivos de llamada de bases (*.cbcl) agregados en un archivo por carril, superficie y ciclo.

- s.locs: el archivo de ubicaciones de grupo para el experimento.
- **InterOp:** archivos binarios.
- 🚞 Recipe (Fórmula): archivo de la fórmula específica del experimento.
- 🛅 Thumbnail Images (Imágenes en miniatura): imágenes en miniatura cada 10 placas.
- 🗀 LIMS: el archivo de configuración del experimento (*.json), si procede.
- **Audit** (Auditoría)
 - AuditInfo.xml
- 🗏 RTA3.cfg
- 🗏 RunInfo.xml
- RunParameters.xml
- RTAComplete.txt

- CopyComplete.txt
- E SequenceComplete.txt
- IlluminaRunManagerCopyComplete.txt
- 🗏 Manifest.tsv

Mantenimiento y resolución de problemas

Estas secciones describen los procedimientos de mantenimiento y resolución de problemas para el NovaSeq 6000Dx.

Para cuestiones técnicas, visite la página de Instrumento NovaSeq 6000Dx en el sitio de asistencia de Illumina. Las páginas de asistencia proporcionan acceso a la documentación, las descargas y las preguntas frecuentes. Para acceder a los boletines de asistencia, inicie sesión en su cuenta de Mylllumina.

Si tiene problemas con el rendimiento o la calidad de los experimentos, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Mantenimiento preventivo

Illumina recomienda programar un servicio de mantenimiento preventivo cada año. Si no dispone de contrato de servicios, póngase en contacto con el comercial de su región o con el servicio de asistencia técnica de Illumina para acordar un servicio de mantenimiento preventivo facturable.

Lavado de mantenimiento V2

El software solicita un lavado de mantenimiento en los siguientes casos:

- Cuando no se ha efectuado ningún lavado de mantenimiento en los últimos 14 días.
- Cuando un lavado posterior al experimento falla o se queda por terminar.

El lavado de mantenimiento irriga el sistema con diluciones de Tween 20 y NaOCI suministradas por el usuario. Las diluciones se dispensan de los cartuchos de lavado a la celda de flujo, a las botellas de reactivos utilizados y a cada depósito de cartuchos con el fin de lavar todos los dispensadores. La duración del lavado es de 120 minutos aproximadamente.

Un lavado de mantenimiento requiere un cartucho de tampones usado y además lo siguiente, que se proporciona con el instrumento:

- Cartucho de lavado de SBS
- Cartucho de lavado de grupos
- Celda de flujo de lavado de cuatro carriles

Al igual que con los cartuchos de reactivos, los cartuchos de lavado están codificados por colores para evitar los errores de carga. El cartucho de lavado de SBS tiene un pocillo central para la dilución de Tween 20. La dilución de NaOCI se añade a cuatro depósitos en el cartucho de lavado de grupos.



PRECAUCIÓN

Si no vacía las botellas de reactivos utilizados puede interrumpir el lavado y producirse un desbordamiento, lo que dañaría el instrumento y constituiría un riesgo para la seguridad.

Figura 25 Cartucho de lavado de SBS (izquierda) y cartucho V2 de lavado de grupos (derecha)



Preparación de la solución de lavado

- 1. Añada 400 ml de agua de laboratorio a una botella de centrifugado de 500 ml.
- 2. Añada 0,2 ml de Tween 20 al 100 % para obtener una solución de lavado de, al menos, 400 ml de Tween 20 al 0,05 %.

Con una dilución recién preparada de Tween 20 se limita la entrada de contaminantes en el sistema de fluídica.

- 3. Invierta para mezclar.
- 4. Retire la tapa del pocillo central del cartucho de lavado de SBS.

5. Añada solución de lavado al pocillo central. Llene hasta la línea de llenado, la cual indica el volumen mínimo necesario.

Los otros depósitos permanecerán vacíos.

Figura 26 Pocillo central lleno hasta la línea de llenado



- 6. Combine los siguientes volúmenes en un tubo de centrifugado de 50 ml para preparar 40 ml de NaOCI para reactivos al 0,12 %:
 - NaOCI para reactivos al 5 % (1 ml)
 - Agua desionizada (39 ml)



PRECAUCIÓN

Utilice solo NaOCI para reactivos. Absténgase de usar productos desinfectantes de uso general, ya que pueden contener compuestos con amoníaco, los cuales pueden dar lugar a experimentos en los que las lecturas superen el filtro en un porcentaje reducido.

- 7. Invierta para mezclar.
- 8. Añada 4 ml de NaOCI para reactivos al 0,12 % a las posiciones marcadas del cartucho de lavado de grupos V2.

Las ubicaciones están marcadas con Fill (Llenar) y con un círculo naranja. Todos los demás depósitos permanecerán vacíos.

Figura 27 Posiciones para NaOCI al 0,12 %



Carga de la celda de flujo de lavado

- Retire cualquier elemento de la superficie del instrumento.
 Mantenga la superficie libre durante el lavado de mantenimiento y evite apoyarse en el instrumento.
- 2. En el menú principal, seleccione **Sequencing** (Secuenciación), **Wash** (Lavado), y, a continuación, qué lado lavar:
 - A+B: Lavar ambos lados simultáneamente.
 - A: Lavar solo el lado A.
 - **B**: Lavar solo el lado B.

No se admite el inicio escalonado de los lavados de mantenimiento. El software inicia la serie de pantallas de lavado.

Un lavado de mantenimiento en una cara solo se puede iniciar cuando la otra está inactiva o realizando ciclos de lectura de SBS. La hora de inicio escalonado de NVOS indica la disponibilidad del instrumento para iniciar un nuevo experimento o lavado. Consulte *lnicio escalonado de experimentos* en la página 60 para obtener más información.

- 3. Seleccione **OK** (Aceptar) para aceptar la advertencia y abrir la puerta de la celda de flujo.
- 4. Cargue una celda de flujo de lavado.
- Seleccione Close Flow Cell Door (Cerrar puerta de la celda de flujo).
 La puerta se cierra, se comprueban los sensores y el RFID, y aparece en la pantalla el ID de la celda de flujo.

Carga de los cartuchos de lavado

Los cartuchos de lavado son necesarios para realizar un lavado de mantenimiento. No utilice los cartuchos de SBS ni los cartuchos de grupos utilizados.

- 1. Abra las puertas del compartimento de líquidos y, a continuación, la puerta del refrigerador de reactivos.
- Retire los cartuchos de SBS y de reactivos de grupos utilizados. Deseche el contenido no usado de conformidad con las normativas aplicables en su región.
 Para desechar de forma segura la posición n.º 30 del cartucho de grupos, consulte *Desacople de la posición n.º 30*.
- Cargue los cartuchos de lavado en el cajón del refrigerador de reactivos como se indica a continuación, de modo que las etiquetas Insert (Insertar) estén orientadas hacia la parte trasera del instrumento:
 - Coloque el cartucho de SBS (etiqueta gris) en la posición izquierda.
 - Coloque el cartucho de grupos V2 (etiqueta naranja) en la posición derecha.
- 4. Deslice el cajón para introducirlo en el refrigerador de reactivos y, seguidamente, cierre la puerta de este.

Se comprueban los sensores, y se escanea y se muestra en pantalla el RFID de cada cartucho.

- 5. Abra el cajón de tampones.
- 6. Si todavía no hay ninguno, cargue un cartucho de tampones utilizados.

Vaciado de botellas de reactivos utilizados

Siga las instrucciones que aparecen a continuación para vaciar las botellas de reactivos utilizados en *cada* experimento de secuenciación. Si su sistema está configurado para enviar reactivos utilizados al exterior, la botella pequeña recoge los reactivos utilizados y debe vaciarse en cada experimento de secuenciación. La botella grande debe estar colocada.



PRECAUCIÓN

Este conjunto de reactivos contiene sustancias químicas que pueden ser peligrosas. Evite su inhalación, ingestión y el contacto con la piel o los ojos, puesto que puede provocar lesiones. Utilice un equipo de protección, incluidos gafas, guantes y batas de laboratorio adecuados para el riesgo de exposición. Manipule los reactivos utilizados como residuos químicos y deséchelos de conformidad con las normativas y leyes regionales, nacionales y locales aplicables. Para obtener más información sobre seguridad, salud y medioambiente, consulte la hoja de datos de seguridad en support.illumina.com/sds.html.

- 7. Retire y vacíe la botella pequeña de reactivos utilizados como se indica a continuación.
 - a. Levante la palanca y retire la botella pequeña de reactivos utilizados del hueco. Sujete la botella por los lados.

- b. Retire la tapa roscada del soporte correspondiente situado en la parte delantera de la botella.
- c. Cierre la abertura de la botella con la tapa para evitar que se derrame.
- d. Mantenga el contenido apartado del contenido de la otra botella y deséchelo de conformidad con las normativas aplicables de su región.
- e. Vuelva a colocar la botella destapada en el hueco y baje la palanca. Guarde la tapa en el soporte destinado a tal efecto.
- 8. Retire y vacíe la botella grande de reactivos utilizados como se indica a continuación.
 - a. Con la ayuda del mango superior, retire la botella grande de reactivos utilizados del lado izquierdo del cajón de tampones.
 - b. Retire la tapa roscada del soporte correspondiente situado en la parte delantera de la botella.
 - c. Cierre la abertura de la botella con la tapa para evitar que se derrame.
 - d. Deseche el contenido de conformidad con las normativas pertinentes de su región. Sujete los mangos durante el vaciado.
 - e. Vuelva a colocar la botella destapada en el cajón de tampones. Guarde la tapa en el soporte destinado a tal efecto.

Figura 28 Devolución de la botella vacía



- 9. Utilice un nuevo par de guantes sin talco.
- 10. Cierre el cajón de tampón y, después, cierre las puertas del compartimento de líquidos.



PRECAUCIÓN

Si no vacía las botellas de reactivos utilizados puede interrumpir el experimento y producirse un desbordamiento, lo que dañaría el instrumento y constituiría un riesgo para la seguridad.

Inicio del lavado

 Seleccione la casilla de verificación que indica que ambas botellas de reactivos utilizados están vacías y, a continuación, seleccione Start Wash (Iniciar lavado).

El lavado empieza y se muestra la hora estimada de finalización de este.



PRECAUCIÓN

Si no vacía las botellas de reactivos utilizados puede interrumpir el lavado y producirse un desbordamiento, lo que dañaría el instrumento y constituiría un riesgo para la seguridad.

- 2. Una vez finalizado el lavado, seleccione Home (Inicio).
- 3. Deje los consumibles en su sitio hasta el siguiente experimento.

Los dispensadores permanecen en los cartuchos de SBS y de grupos con el fin de evitar que entre aire en el sistema. Los dispensadores del cartucho de tampones se elevan para que las botellas de reactivos utilizados puedan vaciarse. Antes del siguiente lavado de mantenimiento, elimine el líquido de lavado que quede en el cartucho de lavado y enjuague el depósito con agua limpia. Deje que los cartuchos se sequen completamente antes de cada uso.

Solución de problemas

Para cuestiones técnicas, visite la página de Instrumento NovaSeq 6000Dx en el sitio de asistencia de Illumina. El sitio de asistencia proporciona acceso a la documentación, las descargas y las preguntas frecuentes. Para acceder a los boletines de asistencia, inicie sesión en su cuenta de Mylllumina.

Si tiene problemas con el rendimiento o la calidad de los experimentos, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Finalización de un experimento

La finalización de un experimento en el sistema NovaSeq 6000Dx es *definitiva*. El software no puede reanudar el experimento ni guardar los datos de secuenciación, y tampoco se pueden reutilizar los consumibles.

- Seleccione End (Finalizar) y, después, seleccione Yes (Sí) para confirmar el comando. Si el experimento finalizó después de la Lectura 1, el software iniciará el lavado posterior al experimento automático.
- 2. Si se le solicita, seleccione entre las siguientes opciones de lavado:
 - End Run Without Wash (Finalizar experimento sin lavar): se finaliza el experimento y se inicia un lavado de mantenimiento.
 - End Run and Wash (Finalizar experimento y lavar): se finaliza el experimento y se lleva a cabo un lavado automático posterior al experimento.
 - Cancel (Cancelar): se continúa con el experimento actual.

Si se finaliza el experimento entre la finalización de la generación de grupos y la finalización de la Lectura 1, el software muestra las opciones de lavado. En caso contrario, el software iniciará el lavado posterior al experimento automático.

3. Si ha seleccionado End Run Without Wash (Finalizar experimento sin lavar), siga las indicaciones del software para configurar un lavado de mantenimiento.

Bandeja de pérdidas

Hay una bandeja de pérdidas en la base del instrumento para recoger las fugas de reactivos o de refrigerante, así como para recoger el desbordamiento de las botellas de reactivos utilizados. En condiciones normales, la bandeja de fugas está seca. Las pérdidas indican un problema con el instrumento y el desbordamiento se produce cuando las botellas de reactivos utilizados no se vacían con regularidad.

Durante la comprobación previa al experimento, los sensores detectan si la bandeja de pérdidas contiene algún líquido:

- si la bandeja de pérdidas contiene líquido, pero no está llena, el experimento puede continuar, aunque debe ponerse en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.
- Si la bandeja de pérdidas está llena, el experimento no puede continuar y debe ponerse en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.



PRECAUCIÓN

Vacíe las botellas de reactivos utilizados antes de *cada experimento*. Los experimentos se detienen si cualquiera de las botellas de reactivos utilizados está llena. El desbordamiento de cualquiera de las botellas de reactivos utilizados produce daños en el instrumento, hace que un representante de Illumina tenga que ir al centro y constituye un riesgo para la seguridad.

Solución de problemas de gestión de procesos

En la siguiente tabla se proporcionan opciones de solución de problemas para el icono N/A en la pantalla Process Management (Administración de procesos). La ubicación del icono depende de la configuración del experimento.

- El icono N/A se muestra en la columna BaseSpace Sequence Hub cuando el experimento se ha configurado para cargarse en BaseSpace Sequence Hub.
- El icono N/A se muestra en la columna Network (Red) cuando el experimento se configura para cargarse en una carpeta de resultados de la red.

Run Status (Estado del experimento)	Acción de solución de problemas
Hay un experimento en curso	Cierre la pantalla Process Management (Administración de procesos), espere aproximadamente cinco minutos y vuelva a abrir la pantalla.
No hay un experimento en curso	Apague y vuelva a encender el instrumento y vuelva a abrir la pantalla Process Management (Administración de procesos).

Si el icono N/A sigue mostrándose después de haber realizado estas acciones de solución de problemas, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Errores de la comprobación previa al experimento

Si se produce un error durante las comprobaciones previas al experimento, utilice las siguientes acciones para resolver el error. Si va a configurar un experimento con una celda de flujo doble y un lado falla, puede cancelar el lado fallido y continuar con el lado que superó la comprobación.

Cuando una comprobación previa al experimento falla, los RFID de la celda de flujo, los reactivos y los tampones no se bloquean, de modo que puede utilizar los consumibles para un experimento posterior. Cuando se inicia el experimento, los dispensadores perforan los cierres metálicos de los cartuchos de reactivos y se bloquean todos los RFID.

Comprobación del sistema	Motivo del error	Acción recomendada
Sensores	Una puerta del compartimento está abierta, un consumible no está bien cargado o un sensor, como mínimo, no funciona.	Seleccione Retry (Reintentar) y siga las indicaciones que aparecen en pantalla para resolver el error.
Espacio en disco	El espacio en disco es insuficiente, porque la ubicación especificada para la carpeta de resultados está llena.	Utilice la pantalla Process Management (Administración de procesos) para borrar espacio de disco de la ubicación de carpeta de resultados especificada.
Conectividad del sistema	La conexión a RTA3, el sistema de fluídica u otra conexión se ha interrumpido.	Seleccione Retry (Reintentar) y siga las indicaciones que aparecen en pantalla para resolver el error.

Comprobación del sistema	Motivo del error	Acción recomendada
Alineación	La posición de la celda de flujo impide la adquisición de imágenes.	Siga las indicaciones que aparecen en pantalla para volver a cargar la celda de flujo.

Reiniciar, Apagar o Apagar y encender el instrumento

El NovaSeq 6000Dx solo puede reiniciarse, apagarse o apagarse y encenderse cuando el instrumento está inactivo. Si una secuenciación o análisis están en curso, se muestra una advertencia y no hay opción de continuar.

- **Reboot** (Reiniciar): reinicia el instrumento sin apagarlo completamente.
 - Para reiniciar el instrumento, seleccione **Reboot** (Reiniciar) en el menú Settings (Configuración) del instrumento.
- Shut Down (Apagar): al apagar el instrumento se desconecta de forma segura el software, así como la fuente de alimentación del instrumento. La barra de estado pasa de color verde a blanco, lo que indica que el apagado está en curso. En circunstancias normales, el apagado del instrumento es innecesario.
 - Para apagar el instrumento, seleccione Shut Down (Apagar) en el menú Settings (Configuración) del instrumento o en un navegador.
- **Power Cycle** (Apagado y encendido): apaga el instrumento completamente y lo reinicia. Cada vez que se produzca un fallo de software, es necesario apagar el instrumento y volver a encenderlo.
 - Para apagar y encender el instrumento, seleccione Power Cycle (Apagado y encendido) en el menú Settings (Configuración) del instrumento.

Volver a poner un análisis en cola sin cambios

Si no se introducen cambios en los ajustes de configuración del experimento, se crea un nuevo experimento a partir del experimento original y se inicia la repetición del análisis.

1. En la página de resultados del experimento, seleccione **Requeue Analysis** (Volver a poner un análisis en cola).

Se abre la ventana Requeue Analysis (Volver a poner un análisis en cola).

- 2. Seleccione la opción de volver a poner en cola sin cambios y proporcione un motivo para volver a poner en cola en el campo Reason (Motivo).
- 3. El nuevo experimento aparece en la pestaña Active Runs (Experimentos activos).

Volver a poner en cola y editar la configuración

1. En la página de resultados del experimento, seleccione **Requeue Analysis** (Volver a poner un análisis en cola).

- 2. En la ventana Requeue Analysis (Volver a poner un análisis en cola), seleccione la opción para editar los ajustes de configuración del experimento y volver a poner un análisis en cola. Proporcione un motivo para volver a poner en cola en el campo Reason (Motivo).
- 3. Edite la descripción del experimento y seleccione Next (Siguiente).
- 4. Edite las muestras o importe una nueva hoja de muestras y seleccione Next (Siguiente).
- 5. Edite la configuración de los ajustes del análisis como desee y seleccione **Requeue** (Volver a poner en cola).

Los resultados del experimento para el experimento original se actualizan con un enlace al experimento vuelto a poner en cola.

Error en experimento antes de la generación de grupos

Si el software no completa el experimento antes de que se inicie la generación de grupos, puede guardar los cartuchos de reactivos y el tubo de bibliotecas (incluida la muestra) para un nuevo experimento. Si se reutiliza inmediatamente, puede también guardar la celda de flujo. Cuando se inicia la generación de grupos, los dispensadores perforan los cierres metálicos y los reactivos se transfieren al tubo de bibliotecas y a la celda de flujo, de modo que los consumibles y las bibliotecas no se pueden usar para otro experimento.

Puede utilizar una de las siguientes opciones para configurar un nuevo experimento con los cartuchos de reactivos, el tubo de bibliotecas y la celda de flujo guardados del experimento fallido:

- Configurar un nuevo experimento inmediatamente: configure el nuevo experimento en un plazo de 4 horas desde el error del experimento. Los cartuchos de reactivos, el tubo de bibliotecas y la celda de flujo permanecen cargados.
- **Configurar un nuevo experimento más tarde**: configure el nuevo experimento en un plazo de tres semanas desde el error del experimento. Los cartuchos de reactivos se descargan del instrumento y se almacenan. Los consumibles guardados deberán estar etiquetados con la fecha y almacenados en las condiciones iniciales. La celda de flujo no se puede reutilizar y debe desecharse.

Configuración de un experimento nuevo de manera inmediata

- 1. Si el experimento falla y el otro lado del instrumento está inactivo, reinicie el instrumento. De lo contrario, seleccione **Home** (Inicio).
- 2. Configure un experimento nuevo.
- 3. Deje la celda de flujo actual en su sitio.
- Abra y cierre la puerta del refrigerador de reactivos y el cajón de tampones para hacer que el NVOS vuelva a leer los RFID del cartucho de reactivo.
 Los cartuchos, el tubo de bibliotecas y la celda de flujo pueden permanecer en el instrumento hasta 4 horas después del fallo en el experimento.
- 5. En caso necesario, vacíe las botellas de reactivo utilizadas y vuelva a colocarlas en el instrumento.

6. Continúe con la configuración del experimento.

Archivos de solución de problemas

Archivo	Carpeta	Descripción
Archivo de información del experimento (RunInfo.xml)	Carpeta raíz	 Contiene la siguiente información del experimento: Número de ciclos del experimento Número de lecturas del experimento Si la lectura es indexada Número de sectores y placas de la celda de flujo
Archivo de parámetros del experimento (RunParameters.xml)	Carpeta raíz	Contiene el nombre del experimento e información sobre los parámetros y componentes del experimento, incluida la siguiente información de RFID: números de serie, números de lote, fechas de caducidad y números de catálogo.
Archivos InterOp (*.bin)	InterOp	Los archivos InterOp se actualizan durante el experimento.
Archivos de registro	Logs	Los archivos de registro describen cada paso llevado a cabo por el instrumento en cada ciclo —incluido el tipo de reactivo utilizado— y enumeran las versiones de software y firmware empleadas con el experimento. El archivo llamado [InstrumentName]_ CurrentHardware.csv muestra los números de serie de los componentes del instrumento.

Índice alfabético

%

% de PF 67

Α

abrazaderas, celda de flujo 4 actividades posteriores al experimento 61 adquisición de imágenes 29, 63-64 algoritmo Phred 68 análisis en tiempo real 1,7 apagado 81 aplicaciones 1 arañazos, celdas de flujo 54 archivos CBCL 67 archivos de filtro 63, 69 archivos de llamada de bases 63, 69 archivos de registro 64 archivos InterOp 7, 63, 69 asistencia al cliente 87 asistencia técnica 87 ausencia de llamadas 65-66 ayuda 78 ayuda, técnica 87

В

bandeja para gotas 79 baños de agua 51 barra de estado 4, 81 barra de luz 4, 81 BaseSpace Sequence Hub 1 bcl2fastq2 63 boletines de asistencia 78

С

calidad de datos 67 cámaras 1, 4, 64 canal rojo 66 canal verde 66 carriles 29,64 cartucho de tampones 56, 76 cartuchos de lavado 72-73, 76 cartuchos de reactivos almacenamiento 82 descarga 56 etiquetado 28, 30 preparación 51 CE 63 cebadores personalizados 31 celdas de flujo arañazos 54 especificaciones 28 etiquetado 28 limpieza 54 celdas de flujo de 2 carriles 29 celdas de flujo de 4 carriles 29 celdas de flujo de tramas 1, 29 ciclos de secuenciación 59 colores de los diagramas 58 compartimento de líquidos 30 compartimento de tampones 56 compartimentos 4 comprobaciones automatizadas 80 comprobaciones previas al experimento 80 conectividad del sistema 80 consumibles agua de laboratorio 34 descarga 61,78 lavados de mantenimiento 72 contaminación cruzada 6, 61 conversión a FASTQ 63

D

datos de medición 58 desbordamiento 52, 76, 79 descarga de cartuchos de reactivos 56 desecho de reactivos utilizados 6 desplazamiento de instrumentos 81 diagnóstico 4 directrices para el agua de laboratorio 34 documentación 87 documentación técnica 68 duraciones experimento de secuenciación 58 generación de grupos 59 lavado automático posterior al experimento 61 lavado de mantenimiento 72

Ε

eliminación de formamida 61 error de alineación 80 errores probabilidad 67-68 espacio en disco 80 especificaciones 28 especificaciones del congelador 33 especificaciones del frigorífico 33 etiquetas, componentes del kit 28 experimentos duración 58 escalonamiento 60 métricas 63 puesta en pausa 60 reanudación 78

F

fallos de registro 65 fases de hebra retrasada y hebra adelantada 66 filtrado de grupos 67 filtro de castidad 67

G

generación de grupos, duración 59 generación de plantillas 65 gradillas de descongelación 51 gradillas de rejilla 51 grupos que superan el filtro 58 guantes, cambio 52, 76 guardado de cartuchos de reactivos 82

Η

hipoclorito sódico 61, 73 hojas de datos de seguridad 6

imágenes 63 intensidades de grupos 66

J

juntas 29,54

L

lavados celda de flujo 72 duración 61, 72 frecuencia 72 lavados de mantenimiento consumibles 72 solución de lavado 73 Lectura 1 78 lecturas, número 28 LIMS 1

Μ

mantenimiento preventivo 72 mantenimiento, preventivo 72 miniaturas 69 modos 28 motor informático 63

Ν

nanopocillos 66

NaOCI 61, 73 nombre de carpeta de resultados 70 nucleótidos 66 numeración de placas 65 numeración de superficies 65 número de ciclos 59

0

objetivo de alineación óptica 4, 54 óptica 4

Ρ

páginas de asistencia 78 pantalla de secuenciación 58 paquete de software 7 pausa de experimentos 60 pérdidas 79 PhiX alineación 63 pipetas 33 placas 29,63 plataforma 54 plataforma NovaSeq Xp 54 platina de la celda de flujo 4, 54 posición n.º 30 61, 76 posiciones del dispensador 61, 78 problemas de fluídica 79 puertos USB 4 puntuaciones Q 58, 67-68

R

reactivos utilizados 5, 52, 56, 76 reanudación de experimentos 78 refrigerador 5 refrigerador de reactivos 5 registros de errores 64 reinicio tras apagado 81 rendimiento 58 reubicación del instrumento 81 RFID 80 RunInfo.xml 69

S

sectores 29, 64-65 secuenciación de dos canales 66 seguimiento de muestras 31 sensores 4, 80 Servicio de copia universal 7 sistema de fluídica 6, 73 sitio web, asistencia 78 software de control 7 solución de lavado 30 soporte de la celda de flujo 54 soportes de tapas 52, 76 superan el filtro (PF) 67 sustancias químicas peligrosas 6

Т

tablas de calidad 68 tubos de bibliotecas 31, 82 almacenamiento en cartucho 82 Tween 20 73

U

ubicaciones de grupos 63, 69

V

valores de intensidad 66 Visor del análisis de secuenciación 63,65

Asistencia técnica

Si necesita asistencia técnica, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Sitio web:	www.illumina.com
Correo	techsupport@illumina.com
electrónico:	

Números del servicio de asistencia técnica de Illumina

Región	Teléfono gratuito	Internacional
Australia	+61 1800 775 688	
Austria	+43 800 006249	+4319286540
Bélgica	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
Canadá	+1 800 809 4566	
China		+86 400 066 5835
Dinamarca	+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	+33170770446
Alemania	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
Hong Kong (China)	+852 800 960 230	
India	+91 8006500375	
Indonesia		0078036510048
Irlanda	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
Italia	+39 800 985513	+39 236 00 37 59
Japón	+81 0800 111 5011	
Malasia	+60 1800 80 6789	
Países Bajos	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
Nueva Zelanda	+64 800 451 650	
Noruega	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
Filipinas	+63 180016510798	
Singapur	+1 800 579 27 45	
Corea del Sur	+82 80 234 53 00	

Región	Teléfono gratuito	Internacional
España	+34 800 300 143	+34 911 899 417
Suecia	+46 2 00883979	+46 8 50619671
Suiza	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
Taiwán, China	+886 8 06651752	
Tailandia	+66 1800 011 304	
Reino Unido	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197
Estados Unidos	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
Vietnam	+84 1206 5263	

Hojas de datos de seguridad (SDS): Disponibles en el sitio web de Illumina,

support.illumina.com/sds.html.

Documentación del producto: Disponible para su descarga de support.illumina.com.



Illumina 5200 Illumina Way San Diego, California 92122 (EE. UU.) +1 800 809 ILMN (4566) +1 858 202 4566 (fuera de Norteamérica) techsupport@illumina.com www.illumina.com

PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

© 2022 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.



Illumina Netherlands B.V. Steenoven 19 5626 DK Eindhoven Países Bajos

Patrocinador australiano

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

illumına