

# NovaSeq 6000

## 시퀀싱 시스템 안내서



이 문서와 이 문서에 수록된 내용은 Illumina, Inc. 및 그 회사("Illumina")의 재산으로, 여기에 설명된 제품의 사용과 관련하여 전적으로 계약상 보증된 고객만을 위해 사용할 수 있으며 그 외의 목적으로는 사용할 수 없습니다. 이 문서와 이 문서에 수록된 내용은 다른 목적으로 사용되거나 배포될 수 없으며, Illumina의 사전 서면 승인 없이는 어떠한 방식으로도 달리 전달, 공개하거나 복제할 수 없습니다. Illumina는 이 문서를 통해 특허, 상표, 저작권 또는 관습법적 권한이나 유사한 타사 권한에 따라 어떠한 라이선스도 양도하지 않습니다.

이 문서에 설명된 제품의 올바르게 안전한 사용을 위해 적절한 교육을 받았고 자격을 갖춘 사람이 이 문서의 지침을 엄격하고 정확하게 준수해야 합니다. 해당 제품을 사용하기 전에 이 문서의 모든 내용을 철저히 읽고 숙지해야 합니다.

여기에 설명한 모든 지침을 완전히 읽지 않거나 명확하게 따르지 않을 경우 제품 손상, 사용자나 다른 사람의 신체 부상, 재산상의 손해가 발생할 수 있으며 제품에 적용되는 모든 보증이 무효가 됩니다.

Illumina는 여기에 설명된 제품(그 부품이나 소프트웨어 포함)을 잘못 사용하여 발생하는 일에 대해 어떠한 책임도 지지 않습니다.

© 2017 Illumina, Inc. All rights reserved.

Illumina, BaseSpace, HiSeq, HiSeq X, NovaSeq 및 하단 흐름 디자인은 미국 및/또는 다른 국가에서 Illumina, Inc. 및/또는 그 회사의 등록 또는 출원 상표입니다. 그 밖의 모든 이름, 로고 및 기타 상표는 해당 소유자의 재산입니다.

## 개정 내역

문서	날짜	변경 내용 설명
자료 번호 20020483 문서 번호 1000000019358 v03	2017년 9월	<ul style="list-style-type: none"> <li>· S1 및 S4 플로우 셀 지원을 포함한 NovaSeq 제어 소프트웨어 v1.2에 대한 소프트웨어 설명을 업데이트했습니다.</li> <li>· S1 및 S4 플로우 셀의 이중 플로우 셀 실행에 대한 디스크 공간 요건을 추가했습니다.</li> <li>· 특정 *.json 파일에 대한 이름 지정 요건을 지정했습니다.</li> <li>· 키트 및 부속품 장의 키트 개요 정보를 재구성했습니다. 이 장에서는 시약 및 라이브러리 장착 키트에 대한 구성, 컴포넌트 및 호환성 라벨 지정에 대해 설명합니다.</li> <li>· 사용자 제공 소모품에 theNovaSeq 5000/6000 시약 키트를 추가했습니다.</li> <li>· S1 및 S4 플로우 셀에 대한 정보를 포함하도록 라이브러리 풀링 및 denaturation 지침을 업데이트했습니다.</li> <li>· S1 및 S2에 2시간 수조, S4에 4시간 수조를 사용하도록 시약 카트리지에 해동에 대한 지침을 업데이트했습니다.</li> <li>· S4 컴포넌트를 포함하도록 라이브러리 튜브, 시약 카트리지 및 플로우 셀의 설명을 업데이트했습니다.</li> <li>· 관리 장에 자동 소프트웨어 업데이트에 대한 섹션을 추가했습니다.</li> <li>· 전체 게놈 데이터 저장 공간 줄이기(발행 번호 970-2012-013)를 NovaSeq 시리즈 및 HiSeq X Ten 데이터 품질 비교(발행 번호 770-2017-010)로 교체했습니다.</li> <li>· S1 및 S4 타일 정보를 포함하도록 플로우 셀 타일 섹션을 업데이트했습니다.</li> </ul>
자료 번호 20018871 문서 번호 1000000019358 v02	2017년 4월	<p>다음과 같은 정보가 추가되었습니다.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· 실행에 필요한 Illumina 공급 소모품</li> <li>· 시약 키트 컴포넌트의 보관조건</li> <li>· 라이브러리 장착 농도에 대한 권장사항</li> <li>· 2개의 플로우 셀에 대한 NaOH 희석액</li> <li>· 장착하기 전에 플로우 셀을 실온으로 전환하는 단계</li> <li>· 사용한 시약 병을 비운 후 장갑 변경 단계</li> <li>· 타사 LIMS 시스템에 대한 LIMS 아웃풋 구성</li> <li>· 샘플 시트 이름 지정 규칙</li> <li>· 프로세스 관리 아이콘 및 문제 해결</li> <li>· Windows 보안 기능 및 구성 지침이 포함된 부록</li> <li>· 기술 지원 연락처 정보</li> </ul> <p>4시간으로 증가한 시약 카트리지 해동 시간 1% PhiX 주입 용량을 0.9µl로 변경하고 10mM Tris-HCl, pH 8.5를 사용하여 10nM PhiX를 희석하도록 업데이트된 PhiX 주입 지침 미립자가 보이는 경우에만 플로우 셀 및 플로우 셀 대를 세척하도록 업데이트된 지침 14일로 업데이트된 관리 세척 빈도 연속성을 개선하기 위해 재구성 및 통합된 소모품 준비 지침 프렌치 도어를 액체 부분 도어로 이름 변경</p>
자료 번호 20018406 문서 번호 1000000019358 v01	2017년 3월	Process Management (프로세스 관리) 화면에 있는 열의 이름을 Sequencing(시퀀싱)으로 수정했습니다.
자료 번호 20015871 문서 번호 1000000019358 v00	2017년 2월	최초 릴리스

# 목차

<b>1장개요</b> .....	<b>1</b>
소개 .....	1
추가 리소스 .....	2
시퀀싱 개요 .....	2
시퀀싱 작업흐름 .....	3
기기 구성요소 .....	4
<b>2장키트 및 부속품</b> .....	<b>9</b>
키트 개요 .....	9
시약 키트 컴포넌트 .....	10
<b>3장시작</b> .....	<b>14</b>
기기 시작 .....	14
설정 구성 .....	14
사용자 공급 소모품 및 장비 .....	18
<b>4장소모품 준비</b> .....	<b>20</b>
방법 .....	20
라이브러리 지침 .....	20
SBS 및 클러스터 카트리지 해동 .....	20
시퀀싱을 위한 라이브러리 풀링 및 denaturation .....	21
<b>5장시퀀싱</b> .....	<b>25</b>
리드 주기 수 .....	25
시퀀싱 실행 설정 .....	25
실행 진행률 모니터링 .....	31
실행 삭제 .....	32
위치 30번 제거 .....	32
자동 실행 후 세척 .....	33
<b>6장관리</b> .....	<b>34</b>
예방 관리 .....	34
관리 세척 수행 .....	34
플로우 셀 A 및 플로우 셀 B의 교차 실행 .....	37
소프트웨어 업데이트 .....	37
<b>부록 A 문제 해결</b> .....	<b>39</b>
문제 해결 리소스 .....	39
문제 해결 파일 .....	39
실행 전 검사 오류 .....	39
프로세스 관리 문제 해결 .....	40
클러스터링하기 전 실행 실패 .....	40

실행 종료 .....	41
기기 종료 .....	42
<b>부록 B 실시간 분석 .....</b>	<b>43</b>
실시간 분석 개요 .....	43
실시간 분석 작업흐름 .....	45
<b>부록 C 아웃풋 폴더 및 파일 .....</b>	<b>48</b>
시퀀싱 아웃풋 폴더 구조 .....	48
시퀀싱 아웃풋 파일 .....	48
<b>부록 D Windows 보안 .....</b>	<b>50</b>
보안 구성 .....	50
암호 요건 .....	50
Windows 방화벽 .....	50
Enhanced Mitigation Experience Toolkit .....	50
Windows 소프트웨어 제한 정책 .....	51
<b>인덱스 .....</b>	<b>53</b>
<b>기술 지원 .....</b>	<b>58</b>

# 1장 개요

소개 .....	1
추가 리소스 .....	2
시퀀싱 개요 .....	2
시퀀싱 작업흐름 .....	3
기기 구성요소 .....	4

## 소개

Illumina® NovaSeq® 6000 시퀀싱 시스템은 확장 가능한 처리량과 유연한 시퀀싱 기술을 효율적이고 경제적인 벤치탑 시스템을 통해 생산 규모 플랫폼에 담았습니다.

## 기능

- ▶ **확장 가능한 시퀀싱**—NovaSeq 6000은 다양한 분야에서 고품질 데이터가 포함된 프로덕션 수준의 시퀀싱까지 확장할 수 있습니다.
- ▶ **조정 가능한 아웃풋**—NovaSeq 6000은 넓은 아웃풋 범위를 가진 이중 플로우 셀 시스템입니다. 플로우 셀 1개를 시퀀싱하거나 서로 다른 리드 길이를 가진 플로우 셀 2개를 동시에 시퀀싱합니다. 3가지 유형의 플로우 셀과 다른 리드 길이를 혼합하여 일치시킵니다.
- ▶ **패턴화된 플로우 셀**—패턴화된 플로우 셀은 공간을 적게 차지하는 클러스터를 생성합니다. 나노 웰 사이 줄어드는 공간 덕분에 클러스터 밀도와 데이터 아웃풋이 증가합니다.
- ▶ **온보드 ExAmp 혼합**—NovaSeq 6000은 ExAmp 시약과 라이브러리를 혼합하고 라이브러리를 증폭시킵니다. 또한 클러스터를 생성하여 시퀀싱 작업흐름을 간소화합니다.
- ▶ **고처리량 라인 스캐닝**—NovaSeq 6000은 양방향 스캐닝 기술이 적용된 카메라 1대를 사용하여 2개의 색상 채널에서 동시에 플로우 셀 이미지를 빠르게 생성합니다.
- ▶ **RTA(실시간 분석)**—NovaSeq 6000은 RTA3라고 하는 RTA 구현을 사용합니다. 이 통합 소프트웨어는 이미지와 base calls를 분석합니다.
- ▶ **BaseSpace® 시퀀스 허브 통합**—데이터 분석, 저장 및 협업을 위한 Illumina 유전체학 컴퓨팅 환경인 BaseSpace 시퀀스 허브와 시퀀싱 작업흐름이 통합되었습니다. 실행이 진행되는 동안 실시간으로 아웃풋 파일이 해당 환경으로 스트리밍됩니다.
- ▶ **BaseSpace Clarity LIMS 사용 가능**—샘플과 시약의 엔드 투 엔드 추적, 자동화된 작업흐름 및 통합 기기 작동을 통해 작업 효율성을 향상시킵니다.

## 추가 리소스

소프트웨어 다운로드, 교육 리소스, Illumina 호환 제품 정보, 최신 버전의 이 시스템 안내서 및 다음 설명서에 대한 자세한 내용은 Illumina 웹사이트에서 [NovaSeq 6000 시퀀싱 시스템 지원 페이지](#)를 참조하십시오.

리소스	설명
<a href="#">custom 프로토콜 선택기</a>	시퀀싱 실행에 사용되는 라이브러리 준비 방법, 실행 매개변수 및 분석 방법에 맞게 사용자 지정된 통합 설명서를 생성하기 위한 마법사입니다.
<a href="#">NovaSeq 시리즈 현장 준비 안내서 (문서 번호 1000000019360)</a>	실험실 공간, 전기적 요건, 환경 및 네트워크 고려사항에 대한 구체적 내용을 담고 있습니다.
<a href="#">NovaSeq 시리즈 안전 및 규정 준수 안내서(문서 번호 1000000019357)</a>	작업 안전 고려사항, 규정 준수 설명서, 기기 라벨 지정에 대한 내용을 담고 있습니다.
<a href="#">RFID 리더 규정 준수 안내서(문서 번호 1000000002699)</a>	규정 준수 인증, 안전 고려사항 등 기기의 RFID 리더에 대한 내용을 담고 있습니다.
<a href="#">NovaSeq 시리즈 사용자 지정 프라이머 이머 안내서(문서 번호 1000000022266)</a>	Illumina 시퀀싱 프라이머를 사용자 지정 시퀀싱 프라이머로 교체하는 데 대한 정보를 담고 있습니다.

## 시퀀싱 개요

### 클러스터 생성

클러스터 생성 중에 단일 DNA 분자는 플로우 셀 표면에 매여 있다가 동시에 증폭을 거쳐 클러스터를 형성합니다. 이 과정을 준비하는 동안 ExAmp 마스터 믹스는 기기의 온보드 라이브러리와 혼합됩니다. 용량은 플로우 셀에 따라 다릅니다.

### 시퀀싱

클러스터 이미지는 양방향 스캐닝 및 2채널 시퀀싱 화학 반응을 사용하여 생성됩니다. 카메라는 빨간색 및 녹색 빛을 감지하는 센서를 사용하여 각 스와스 이미지를 생성하는 동시에 전체 스와스의 빨간색과 녹색 이미지를 생성합니다. 이미지 생성 후, 패턴화된 플로우 셀에 의해 결정된 위치를 기반으로 하는 각 클러스터에 대한 빨간색과 녹색 신호 비율에 따라 각 타일 내 클러스터에 대해 base calls가 수행됩니다. 이 프로세스가 시퀀싱 주기가 반복됩니다.

### 분석

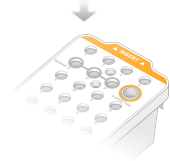
실행이 진행되는 동안 제어 소프트웨어에서 데이터 분석을 위해 지정된 아웃풋 폴더 위치로 base calls(\*.cbcl) 파일을 자동으로 전송합니다.

애플리케이션에 따라 여러 분석 방법을 사용할 수 있습니다. 자세한 내용은 Illumina 웹사이트에 있는 BaseSpace 시퀀스 허브 지원 페이지를 방문하십시오.

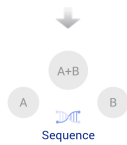
## 시퀀싱 작업흐름



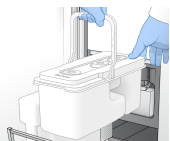
SBS 및 클러스터 시약 카트리지를 해동합니다.



라이브러리를 풀링 및 denaturation합니다.  
해동한 클러스터 카트리지에 라이브러리 튜브를 장착합니다.



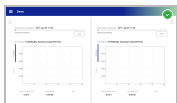
소프트웨어 인터페이스에서 **Sequence(시퀀스)**를 선택하고 이중 또는 단일 플로우 셀 실행을 지정합니다.



이전 실행에서 소모품을 분리하고 현재 실행에 사용할 새 소모품을 장착합니다.  
사용한 시약 병을 비우고 다시 장착합니다.



Run Setup(실행 설정) 화면에서 실행 매개변수를 지정합니다. BaseSpace 시퀀스 허브를 구성한 경우 Log In(로그인) 화면에서 로그인합니다.  
실행 전 검사 후 실행이 자동으로 시작됩니다.



Sequence(시퀀스) 화면, BaseSpace 시퀀스 허브(실행 모니터링이 활성화된 경우) 또는 시퀀싱 분석 뷰어를 사용하는 네트워크 컴퓨터에서 실행을 모니터링합니다.  
데이터는 지정된 아웃풋 폴더로 전송됩니다.



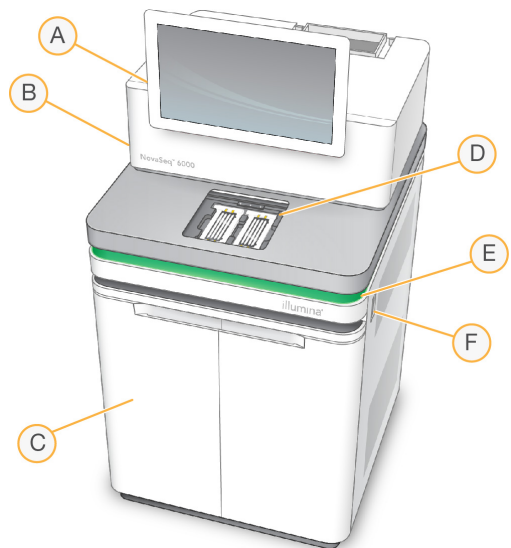
시퀀싱이 완료되면 기기 세척이 자동으로 시작됩니다.



## 기기 구성요소

NovaSeq 6000 시퀀싱 시스템은 터치스크린 모니터, 상태 표시줄, USB 포트가 인접해 있는 전원 버튼 및 3개의 구성요소로 구성되어 있습니다.

그림 1 외부 구성요소



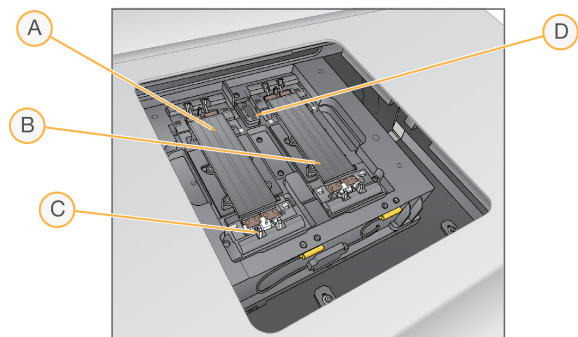
- A 터치스크린 모니터 - 시스템 구성 및 실행 설정을 위해 제어 소프트웨어 인터페이스를 표시합니다.
- B 광학 부분 - 플로우 셀의 이중 표면 이미지 생성을 활성화하는 광학 구성요소가 포함되어 있습니다.
- C 액체 부분 - 시약, 완충제 및 시약에 사용한 병이 포함되어 있습니다.
- D 플로우 셀 부분 - 플로우 셀을 수용합니다.
- E 상태 표시줄 - 플로우 셀 상태를 시퀀싱 준비 완료(녹색), 처리 중(파란색) 또는 주의 필요(주황색)로 나타냅니다.
- F 전원 및 USB 포트 - 전원 버튼 및 USB에 접근하여 주변 구성요소를 연결할 수 있습니다.

## 플로우 셀 부분

플로우 셀 부분에는 플로우 셀 대가 포함되어 있는데, 플로우 셀 A는 왼쪽에, 그리고 플로우 셀 B는 오른쪽에 수용합니다. 양쪽에는 플로우 셀을 자동으로 배치하고 고정하는 4개의 클램프가 있습니다.

플로우 셀 대에 장착된 광학 배열 대상은 광학 문제를 진단하고 해결합니다. 제어 소프트웨어에서 메시지를 표시하면 광학 배열 대상이 시스템을 다시 배열하고 카메라 초점을 조정하여 시퀀싱 결과를 향상시킵니다.

그림 2 플로우 셀 대



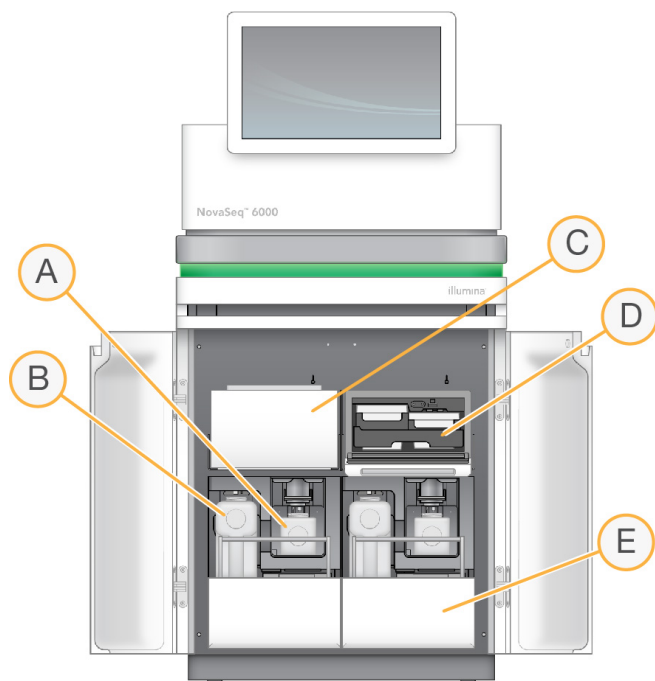
- A 플로우 셀 홀더 A측
- B 플로우 셀 홀더 B측
- C 플로우 셀 클램프(각 측당 1개)
- D 광학 배열 대상

소프트웨어는 플로우 셀 부분 도어의 열고 닫음을 제어합니다. 도어는 플로우 셀을 장착하여 실행이나 관리 세척을 수행하기 위해 자동으로 열립니다. 장착되면 소프트웨어에서 부분 도어를 닫고 플로우 셀을 제 자리로 이동시킨 다음 클램프와 진공 실링을 유지합니다. 센서는 플로우 셀의 존재와 호환성을 확인합니다.

### 액체 부분

실행을 설정하려면 액체 부분에 접근하여 시약과 완충제를 장착하고 사용한 시약 병을 비워야 합니다. 액체 부분은 프렌치 도어가 감싸고 있으며 플로우 셀 A 및 플로우 셀 B와 일치하는 두 부분으로 분할되어 있습니다.

그림 3 액체 부분 컴포넌트



- A 소용량 시약 병 – 사용한 클러스터 카트리지의 시약을 수용하며, 캡 홀더에 캡을 쉽게 보관할 수 있습니다.
- B 대용량 시약 병 – 사용한 SBS 및 완충제 카트리지의 시약을 수용하며, 캡 홀더에 캡을 쉽게 보관할 수 있습니다.
- C 시약 냉각기 – SBS 및 클러스터 카트리지를 냉장합니다.
- D 시약 냉각기 서랍 – 색상으로 구분된 위치는 SBS 카트리지를 왼쪽(회색 라벨)에 그리고 클러스터 카트리지를 오른쪽(주황색 라벨)에 수용합니다.
- E 완충제 서랍 – 사용한 대용량 시약 병을 왼쪽에 그리고 완충제 카트리지를 오른쪽에 수용합니다.

### 사용한 시약

플루이딕 시스템은 클러스터 카트리지 시약(잠재적으로 위험할 수 있음)을 사용한 소용량 시약 병으로 보내도록 설계되었습니다. SBS 및 완충제 카트리지의 시약은 사용한 대용량 시약 병으로 보내집니다. 하지만, 사용한 시약 스트림 간 교차 오염이 발생할 수 있습니다. 안전을 위해 사용한 두 시약 병에는 위험할 수 있는 유해 화학물이 들어 있다고 가정합니다. SDS(안전보건자료)에서 자세한 화학물 정보를 제공합니다.



### 참고

시스템이 사용한 시약을 외부에서 수집하도록 구성된 경우 사용한 대용량 시약 병 스트림은 외부로 보내집니다. 클러스터 카트리지 시약은 계속 사용한 소용량 시약 병으로 이동합니다.

## 시스템 소프트웨어

기기 소프트웨어 제품군에는 시퀀싱 실행, 기기 내 분석 및 관련 기능을 수행하는 통합 애플리케이션이 포함되어 있습니다.


- ▶ **NVCS(NovaSeq 제어 소프트웨어)** – 시퀀싱 실행을 설정하기 위한 단계를 안내하고, 기기 작동을 제어하고, 실행이 진행될 때 통계를 표시합니다. 소모품의 적절한 분리와 장착을 보여주기 위해 NVCS는 실행 설정 중 지침 동영상을 재생합니다.
- ▶ **RTA(실시간 분석)** – 실행 중에 이미지 분석 및 base calls를 수행합니다. NovaSeq 6000은 구성, 보안 및 기타 기능을 강화하여 성능을 최적화하는 RTA3를 사용합니다. 자세한 내용은 [43페이지의 실시간 분석](#)을 참조하십시오.
- ▶ **범용 복사 서비스** – 실행 중 RTA3 및 NVCS의 아웃풋 파일을 아웃풋 폴더로 복사합니다. 이 서비스도 BaseSpace 시퀀스 허브로 데이터를 전송합니다(해당하는 경우). 실행 동안 범용 복사 서비스가 중단되면 서비스에서 다시 연결하고 데이터 전송을 자동으로 다시 시작하려고 여러 차례 시도합니다.

## 상태 아이콘

제어 소프트웨어 인터페이스의 상태 아이콘은 실행 상태를 나타냅니다. 아이콘에 있는 숫자는 상태 조건 개수를 나타냅니다.

실행 상태가 변경되면 아이콘이 깜박이면서 경고합니다. 아이콘을 선택하면 상태에 대한 설명을 볼 수 있습니다. **Acknowledge(확인)**를 선택하여 메시지를 지운 다음 **Close(닫기)**를 선택하여 대화상자를 닫습니다.

표 1 NVCS 상태 아이콘



상태 아이콘	상태 이름	설명
	상태 양호	시스템이 정상입니다.
	처리 중	시스템이 처리 중입니다.
	경고	경고가 발생하여 주의가 필요합니다. 경고는 실행을 중지시키지 않으며 진행하기 전에 조치를 취할 필요가 없습니다.
	오류	오류가 발생했습니다. 오류가 발생하면 실행을 진행하기 전에 조치를 취해야 합니다.

## 프로세스 관리

Process Management(프로세스 관리) 화면을 통해 CE(계산 엔진) 및 하드 드라이브(C:W)에 액세스할 수 있습니다. (프로세스 관리) 화면을 사용하여 실행 진행률을 모니터링하고 실행을 삭제하거나 디스크 공간을 관리합니다. C:W에서 바로 파일 및 폴더를 삭제하지 마십시오.

프로세스 관리는 사용 가능한 디스크 공간, CE 및 C:W에서 사용 중인 공간 및 디스크 공간을 사용하는 실행 상태를 표시합니다. 실행 날짜 및 이름 열은 각 실행을 식별합니다. Run Status(실행 상태), BaseSpace 및 Network(네트워크) 열에 실행의 각 프로세스에 대한 상태가 표시됩니다.

표 2 프로세스 관리 상태 아이콘

과정	아이콘	설명
실행 상태	 Running	실행이 진행 중입니다.
	 Complete	실행에서 시퀀싱을 완료했습니다.
Network(네트워크)	 Copying	네트워크의 아웃풋 폴더에 파일을 복사하는 중입니다.
	 Complete	모든 파일을 네트워크의 아웃풋 폴더에 복사했습니다.
	N/A	실행이 네트워크 아웃풋 폴더에 업로드하도록 구성되지 않았거나 업로드 상태를 알 수 없으므로 해당 사항이 없습니다. 문제를 해결하려면 1페이지의 40페이지의 <a href="#">프로세스 관리 문제 해결</a> .

과정	아이콘	설명
BaseSpace	 Uploading	BaseSpace 시퀀스 허브에 파일을 업로드하는 중입니다.
	 Complete	모든 파일을 BaseSpace 시퀀스 허브에 업로드했습니다.
	N/A	실행이 BaseSpace 시퀀스 허브에 업로드하도록 구성되지 않았거나 업로드 상태를 알 수 없으므로 해당 사항이 없습니다. 문제를 해결하려면 1페이지의 <a href="#">40페이지의 프로세스 관리 문제 해결</a> .

이중 플로우 셀 실행이 시작되려면 CE 및 C:\W에 대한 최소 공간 요구 사항을 충족해야 합니다.

플로우셀	주기당CE공간	C:\공간
S1	1.35GB	20GB
S2	2.7GB	20GB
S4	4.3GB	40GB

디스크 공간 확보에 대한 자세한 내용은 1페이지의 [32페이지의 실행 삭제](#).

## 2장키트 및 부속품

키트 개요 .....	9
시약 키트 컴포넌트 .....	10

### 키트 개요

NovaSeq 6000에서 실행을 수행하려면 NovaSeq 5000/6000 시약 키트가 필요합니다. 이러한 키트는 다음 구성으로 제공됩니다.

실행에 필요한 전체 품목 목록은 18페이지의 [사용자 공급 소모품 및 장비](#).




표 3 키트 구성

키트명	illumina 카탈로그 번호
NovaSeq 5000/6000 S4 시약 키트(300주기)	20012866
NovaSeq 5000/6000 S2 시약 키트(300주기)	20012860
NovaSeq 5000/6000 S2 시약 키트(200주기)	20012861
NovaSeq 5000/6000 S2 시약 키트(100주기)	20012862
NovaSeq 5000/6000 S1 시약 키트(300주기)	20012863
NovaSeq 5000/6000 S1 시약 키트(200주기)	20012864
NovaSeq 5000/6000 S1 시약 키트(100주기)	20012865

### 호환성 라벨 지정

호환되는 키트 컴포넌트를 식별하기 위해 플로우 셀과 카트리지는 키트 모드를 표시하는 기호로 라벨이 지정됩니다(S1, S2 또는 S4). 매니폴드는 여러 모드를 지원하며 S1 및 S2 또는 S4로 라벨이 지정됩니다.

모드가 다른 컴포넌트는 실행을 위해 혼합 및 일치시킬 수 없습니다. 예를 들어 S1 카트리지와 S2 플로우 셀을 페어링하지 마십시오.

키트 모드	라벨에 표시된 내용	설명
S1 키트 컴포넌트		S1 플로우 셀은 2x150bp에서 최대 500Gb의 출력으로 최대 16억 개의 리드를 생성합니다. S1 키트는 가장 높은 처리량이 필요한 사례를 위해 더 적은 수의 시료로 빠른 시퀀싱을 제공합니다.
S2 키트 컴포넌트		S2 플로우 셀은 2x150bp에서 최대 1000Gb의 출력으로 최대 33억 개의 리드를 생성합니다. S2 플로우 셀은 가장 높은 처리량이 필요한 사례를 위해 더 많은 시퀀싱 출력으로 S1 플로우 셀보다 더 많은 수의 리드를 생성하며 빠른 시퀀싱을 제공합니다.
S4 키트 컴포넌트		S4 플로우 셀은 2x150bp에서 최대 3000Gb의 출력으로 최대 100억 개의 리드를 생성합니다. 최대 출력을 위해 설계된 플로우 셀의 4레인 버전입니다. 다양한 종과 적용 범위 깊이에서 경제적인 전체 게놈 시퀀싱을 수행할 수 있습니다.

illumina 웹사이트의 [NovaSeq 시약 키트 제품 페이지](#)에 각 모드에 대한 자세한 사양이 나와 있습니다.

## 시약 키트 컴포넌트

각 NovaSeq 5000/6000 시약 키트에는 다음 컴포넌트가 들어 있습니다. 각 컴포넌트는 정확한 소모품 추적 및 호환성을 위해 RFID(무선 주파수 식별)를 사용합니다.

키트를 받는 즉시 명시된 온도에서 키트 컴포넌트를 보관해야 성능에 지장이 없습니다.

표 4 키트 컴포넌트

수량	키트 컴포넌트	보관 온도
1	라이브러리 튜브*	15°C~30°C*
1	플로우 셀	2°C~8°C
1	완충제 카트리지	15°C~30°C
1	클러스터 카트리지	-25°C~-15°C
1	SBS 카트리지	-25°C~-15°C

\* 사용하기 전에 라이브러리 튜브는 실온(15°C~30°C)에서 보관됩니다.

## 라이브러리 튜브

NovaSeq 5000/6000 라이브러리 튜브는 클러스터 카트리지의 위치 8번에 맞는 16mm 튜브입니다. 위치 8번에는 라이브러리 튜브라는 라벨이 지정되어 있으며 쉽게 식별할 수 있도록 주황색 동그라미가 표시되어 있습니다. 튜브에는 필요한 경우 라이브러리를 보관할 수 있는 나사식 캡이 있습니다. 시퀀싱 전에 캡이 제거되었는지 확인하십시오.

그림 4 라이브러리 튜브

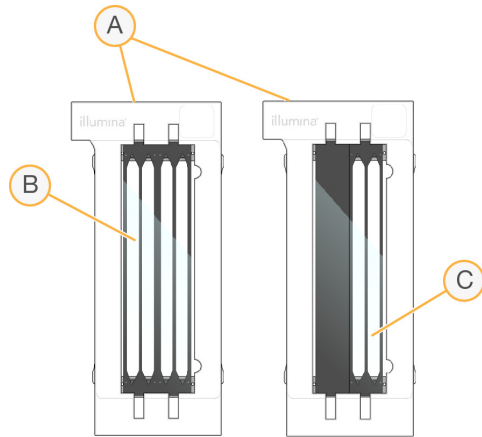


## 플로우 셀

NovaSeq 5000/6000 플로우 셀은 카트리지에 들어 있는 패턴화된 플로우 셀입니다. 플로우 셀은 유리 기반 기질로, 정돈된 정렬의 수십억 개의 나노 웰을 포함하고 이어 아웃풋 리드 수와 시퀀싱 데이터 양을 증가시킵니다. 나노 웰에서 클러스터가 생성되고 이어서 시퀀싱이 수행됩니다.

각 플로우 셀에는 풀링된 라이브러리를 시퀀싱하기 위한 여러 개의 레인이 있습니다. S1 및 S2 플로우 셀에는 각각 2개 레인이 있고, S4 플로우 셀에는 4개 레인이 있습니다. 여러 스와스에서 각 레인의 이미지가 생성되면 소프트웨어가 각 스와스 이미지를 타일이라고 하는 더 작은 부분으로 분할합니다. 자세한 내용은 44페이지의 **플로우 셀 타일**을 참조하십시오.

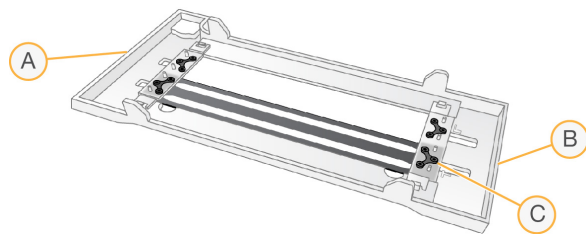
그림 5 플로우 셀



- A 플로우 셀 카트리지
- B 4레인 플로우 셀(S4)
- C 2레인 플로우 셀(S1 및 S2)

각 플로우 셀의 하부에는 4개의 개스킷이 있습니다 라이브러리 및 시약은 플로우 셀의 주입구 끝의 개스킷을 통해 플로우 셀 레인으로 들어갑니다. 배출구 끝의 개스킷은 레인에서 사용된 라이브러리 및 시약을 배출합니다. 플로우 셀 처리 시 개스킷을 건드리지 않도록 하십시오.

그림 6 뒤집은 플로우 셀



- A 배출구 끝
- B 주입구 끝
- C 개스킷(4개 중 1개)



## 완충제, 클러스터 및 SBS 카트리지

NovaSeq 5000/6000 완충제, 클러스터 및 SBS 카트리지에는 시약, 완충제 및 세척액이 사전 충전된 알루미늄 포장지에 싸인 저장소가 있습니다. 시약 키트에는 각 카트리지 유형이 하나씩 들어 있습니다.

카트리지는 기기에 바로 장착되며 장착 오류를 줄이기 위해 색상으로 구분되어 라벨이 지정되어 있습니다. 시약 냉각기 및 완충제 서랍에 있는 가이드를 통해 올바른 방향을 확인할 수 있습니다.

표 5 시약 카트리지

카트리지	설명
 <p>NovaSeq 5000/6000 완충제 카트리지</p>	<p>시퀀싱 완충제가 사전 충전되어 있으며 무게가 최대 6.8kg(15lbs)입니다. 플라스틱 손잡이를 사용하면 운반, 장착 및 분리가 용이합니다. 상판에 있는 움푹 들어간 자리에 카트리지를 채울 수 있습니다.</p>
 <p>NovaSeq 5000/6000 클러스터 카트리지</p>	<p>클러스터링, 인덱싱 및 페어드 엔드 시약과 세척액이 사전 충전되어 있으며, 라이브러리 튜브에 대한 지정된 위치가 포함되어 있습니다. 주황색 라벨을 통해 SBS 카트리지와 클러스터 카트리지를 구별합니다.</p>
 <p>NovaSeq 5000/6000 SBS 카트리지</p>	<p>키트에서 지원하는 주기 수(300, 200 또는 100)에 특정한 용량의 시퀀싱 시약이 사전 충전되어 있습니다. 3개의 시약 위치는 각각 자동 실행 후 세척용으로 예약된 위치에 인접해 있습니다. 회색 라벨이 SBS 카트리지를 클러스터 카트리지와 구별합니다.</p>

## 클러스터 카트리지 저장소

### 제거 가능한 저장소

위치 30번의 denaturation 시약에는 생식계에 영향을 미칠 수 있는 독성 유기 아마이드인 포르아마이드가 들어 있습니다. 시퀀싱 실행 후 사용되지 않은 시약을 안전하게 폐기할 수 있도록 이 저장소를 제거할 수 있습니다.



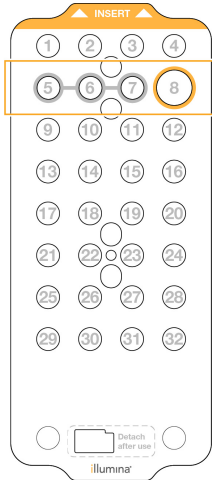
#### 참고

SBS 카트리지는 클러스터 카트리지 상단에 쌓아 놓지 마십시오. 위치 30번을 해제할 수 있습니다.

## 준비된 저장소

3개의 저장소가 사용자 지정 프라이머용으로 예약되어 있으며, 빈 위치는 라이브러리 튜브용으로 예약되어 있습니다. 실행 설정 중 샘플 추적을 위해 라이브러리 튜브가 클러스터 카트리지에 장착되며 이후 실행이 종료될 때까지 카트리지에 그대로 남아 있습니다.

그림 7 숫자가 매겨진 저장소



위치	설명
5, 6, 7	사용자 지정 프라이머(선택사항)용으로 예약됨
8	라이브러리 튜브

사용자 지정 프라이머에 대한 자세한 내용은 *NovaSeq 시리즈 사용자 지정 프라이머 안내서(문서 번호 1000000022266)*를 참조하십시오.

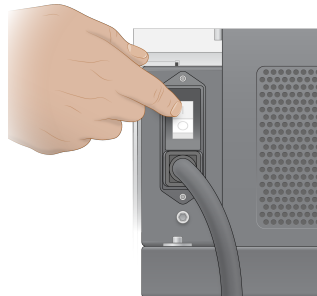
# 3장 시작

기기 시작 .....	14
설정 구성 .....	14
사용자 공급 소모품 및 장비 .....	18

## 기기 시작

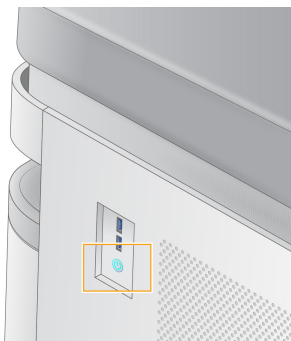
- 1 기기 뒤쪽에 있는 전원 스위치를 (켜기) 위치로 전환합니다.

그림 8 전원 스위치 위치



- 2 기기 오른쪽에 있는 전원 스위치가 파란색으로 켜질 때까지 기다렸다가 누릅니다.

그림 9 전원 버튼 위치



- 3 운영 체제가 로드되면 해당 사이트의 사용자 이름과 암호를 사용하여 Windows에 로그인합니다.
- 4 NovaSeq 제어 소프트웨어를 엽니다.  
소프트웨어가 시작되어 시스템을 초기화합니다. 초기화가 완료되면 Home(홈) 화면이 나타납니다.

## 설정 구성

제어 소프트웨어에는 수동 또는 파일 기반 실행 모드를 구성하는 설정이 포함되어 있습니다.

- ▶ **Manual(수동)**—후속 분석을 위해 데이터를 지정된 아웃풋 폴더로 보내는 기본 모드입니다.
- ▶ **File-Based(파일 기반)**—BaseSpace Clarity LIMS 또는 다른 LIMS 시스템의 파일을 사용하여 실행 매개변수를 정의하는 대안 모드입니다. 자세한 내용은 [15페이지의 LIMS 아웃풋 구성](#).

실행 모드를 구성할 때는 아웃풋 폴더 또는 실행 설정 폴더의 기존 위치를 지정해야 합니다. 이러한 폴더는 필수이며 잘못된 위치는 지정된 위치가 존재하지 않는다는 뜻입니다.

두 실행 모드 모두 분석을 위해 데이터를 BaseSpace 시퀀스 허브로 보내는 옵션이 있습니다.

## 수동 모드 구성

- 1 Main Menu(메인 메뉴)에서 **Settings(설정)**를 선택합니다.  
Settings(설정) 화면이 Mode Selection(모드 선택) 탭으로 열립니다.
- 2 **Manual(수동)**을 선택합니다.
- 3 아웃풋 폴더의 기본 설정 네트워크 위치를 입력하거나 이동합니다. C:\, D:\ 또는 Z:\ 드라이브에 위치를 지정하지 마십시오. 그렇게 하면 잘못된 드라이브 오류가 발생합니다.  
이 설정은 기본 위치입니다. 아웃풋 폴더 위치는 실행할 때마다 변경할 수 있습니다.



### 참고

실행 모니터링 및 저장에 BaseSpace 시퀀스 허브를 사용 중인 경우 아웃풋 폴더는 선택사항입니다.

- 4 [선택사항] 로그 파일을 Illumina에 보내지 않으려면 Send Instrument Performance Data to Illumina(Illumina에 기기 성능 데이터 보내기) 체크박스를 선택 취소하십시오.  
활성화한 경우 이 옵션을 사용하려면 외부 인터넷 연결이 필요합니다.
- 5 **Save(저장)**를 선택합니다.

## 파일 기반 모드 구성

- 1 Main Menu(메인 메뉴)에서 **Settings(설정)**를 선택합니다.  
Settings(설정) 화면이 Mode Selection(모드 선택) 탭으로 열립니다.
- 2 **File-Based(파일 기반)**를 선택합니다.
- 3 LIMS 파일이 포함된 실행 설정 폴더의 기본 설정 네트워크 위치를 입력하거나 찾습니다.  
실행을 설정하기 전에 적절한 LIMS 파일이 실행 설정 폴더에 추가되었는지 확인합니다. 실행 설정 중에 소프트웨어는 라이브러리 튜브 RFID를 사용하여 현재 실행에 대한 파일을 찾습니다.
- 4 [선택사항] 아웃풋 폴더의 기본 설정 네트워크 위치를 입력하거나 이동합니다. C:\, D:\ 또는 Z:\ 드라이브에 위치를 지정하지 마십시오. 그렇게 하면 잘못된 드라이브 오류가 발생합니다.  
아웃풋 폴더 위치는 실행할 때마다 변경할 수 있습니다.
- 5 [선택사항] 로그 파일을 Illumina에 보내려면 Send Instrument Performance Data to Illumina(Illumina에 기기 성능 데이터 보내기) 체크박스를 선택 취소하십시오.  
활성화한 경우 이 옵션을 사용하려면 외부 인터넷 연결이 필요합니다.
- 6 **Save(저장)**를 선택합니다.

## LIMS 아웃풋 구성

시스템이 파일 기반 모드로 구성된 경우 BaseSpace Clarity LIMS가 아닌 다른 LIMS 소프트웨어를 사용하려면 \*.json 형식의 실행 설정 파일을 생성하도록 LIMS를 구성합니다. 파일 이름은 라이브러리 튜브 ID와 일치해야 합니다. 이 파일은 다음 필드를 포함해야 하며, 파일 이름과 값은 대소문자를 구분하지 않습니다.

필드 이름	값
run_name	영문자, 숫자, 하이픈 및 밑줄을 포함할 수 있는 기본 설정 실행 이름
run_mode	다음 모드 중 하나: · S1 · S2 · S4
workflow_type	NoIndex, SingleIndex 또는 DualIndex
librarytube_ID	라이브러리 튜브의 RFID
rehyb*	True 또는 False
Flowcell_ID	플로우 셀의 ID
paired_end	True 또는 False
read1	151 이하의 값
read2	151 이하의 값
index_read1	20 이하의 값
index_read2	20 이하의 값
output_folder	아웃풋 폴더의 경로(이스케이프 시퀀스에 두 개의 백슬래시 사용)
attachment	샘플 시트 또는 기타 *.csv 형식 파일의 경로(이스케이프 시퀀스에 두 개의 백슬래시 사용)
use_basespace	True 또는 False
basespace_mode	RunMonitoringOnly 또는 RunMonitoringAndStorage
use_custom_read1_primer	True 또는 False
use_custom_read2_primer	True 또는 False
use_custom_index_read1_primer	True 또는 False

\* NovaSeq 제어 소프트웨어 v1.0에서는 재혼성화를 사용할 수 없습니다.

이름이 VY9999999-TMP.json인 \*.json 파일 예:

```
"run_name": "Test Experiment",
"run_mode": "S2",
"workflow_type": "DualIndex",
"librarytube_ID": "VY9999999-TMP",
"rehyb": false,
"paired_end": true,
"read1": 151,
"read2": 151,
"index_read1": 8,
"index_read2": 8,
"output_folder": "Z:\\\\Outputfolder",
"attachment": "Z:\\\\samplesheet.csv",
"use_basespace": true,
"basespace_mode": "RunMonitoringAndStorage",
"use_custom_read1_primer": false,
"use_custom_read2_primer": false,
"use_custom_index_read1_primer": false
```

## BaseSpace 시퀀스 허브 구성

다음 지침을 사용하여 BaseSpace 시퀀스 허브의 기본 설정을 구성합니다. 실행 설정 중에 현재 실행에 대한 BaseSpace 시퀀스 허브를 비활성화하고 실행 모니터링 및 저장 설정을 변경할 수 있습니다. BaseSpace 시퀀스 허브에 연결하려면 인터넷 연결이 필요합니다.

- 1 Main Menu(메인 메뉴)에서 Settings(설정)를 선택합니다.  
Settings(설정) 화면이 Mode Selection(모드 선택) 탭으로 열립니다.
- 2 BaseSpace Sequence Hub(BaseSpace 시퀀스 허브) 체크박스를 선택합니다.
- 3 다음 중에서 Configuration(구성) 옵션을 선택합니다.
  - ▶ Run Monitoring and Storage(실행 모니터링 및 저장)—원격 모니터링과 데이터 분석을 위해 실행 데이터를 BaseSpace 시퀀스 허브로 전송합니다. 이 옵션을 사용하려면 실행이 포함된 SampleSheet.csv라는 샘플 시트를 업로드해야 합니다.
  - ▶ Run Monitoring Only(실행 모니터링만)—실행을 원격으로 모니터링할 수 있도록 InterOp, 로그 및 기타 비CBCL 실행 파일을 BaseSpace 시퀀스 허브로 전송합니다.
- 4 Hosting Location(호스팅 위치) 드롭다운 메뉴에서 EU (Frankfurt) 또는 USA (N. Virginia)를 선택합니다. 이 옵션은 데이터를 업로드할 위치를 결정합니다.
- 5 BaseSpace Enterprise 가입자인 경우,
  - a Private Domain(개인 도메인) 체크박스를 선택합니다.
  - b BaseSpace 시퀀스 허브로 SSO(통합 인증)하는 데 사용되는 도메인 이름을 입력합니다.
- 6 Save(저장)를 선택합니다.

## 샘플 시트 이름

NovaSeq 6000 실행에 사용되고 BaseSpace 시퀀스 허브에 업로드되는 샘플 시트는 이름을 SampleSheet.csv (대소문자 구분)로 지정해야 합니다. 샘플 시트 이름을 잘못 지정하고 Run Monitoring and Storage(실행 모니터링 및 저장)를 사용하는 경우 BaseSpace 시퀀스 허브에 실행에 대한 주의 플래그가 지정됩니다. 플래그가 지정된 실행은 More(자세히) | Fix Sample Sheet and Requeue(샘플 시트 수정 및 리큐)를 선택한 다음 적절한 샘플 시트를 입력하여 FASTQ 생성을 대기 상태로 전환할 수 있습니다. 이 경우 샘플 시트를 제공할 때까지 시퀀싱 데이터를 FASTQ 파일로 변환할 수 없습니다.

bcl2fastq2 변환 소프트웨어 v2.19 이상을 사용하여 데이터를 로컬로 FASTQ 파일로 변환하는 경우 명령줄 옵션 `--sample-sheet`를 사용하여 원하는 위치에 원하는 CSV 파일을 지정할 수 있습니다. 명령줄에는 모든 파일 이름을 사용할 수 있습니다.

## 소프트웨어 업데이트 구성

소프트웨어 업데이트 자동 확인은 기본적으로 활성화되어 있습니다. Settings(설정)에서 업데이트에 대한 자동 확인을 비활성화하거나 활성화할 수 있습니다.

- 1 Main Menu(메인 메뉴)에서 Settings(설정)를 선택합니다.
- 2 Software Update(소프트웨어 업데이트)를 선택합니다.
- 3 If enabled, the instrument will display a notification when a Software Updates is available(활성화된 경우 소프트웨어 업데이트가 사용 가능하면 기기에서 알림 표시) 확인란을 선택합니다.
- 4 Save(저장)를 선택합니다.

## 사용자 공급 소모품 및 장비

사용자 공급 소모품 준비, 시퀀싱 및 시스템 관리에 사용되는 소모품과 장비는 다음과 같습니다.

### 소모품

소모품	공급업체	용도
1N NaOH(수산화나트륨)	일반 실험용품 공급업체	라이브러리 변성을 위해 0.2N으로 희석.
10mM Tris-HCl, pH 8.5	일반 실험용품 공급업체	Denaturation 전 라이브러리 및 PhiX 제어(선택사항) 희석
400mM Tris-HCl, pH 8.0	일반 실험용품 공급업체	변성 후 라이브러리 중화 및 선택적 PhiX 제어
이소프로필 알코올	일반 실험용품 공급업체	대물 렌즈 세척 카트리리지 지원
시약 또는 분광 광도계 등급 이소프로필 알코올(99%), 100ml 병	일반 실험용품 공급업체	주기적으로 광학 컴포넌트 세척
원심분리병, 500ml	일반 실험용품 공급업체	관리 세척용 트윈 20 희석.
원심분리 튜브, 30ml	일반 실험용품 공급업체	관리 세척용 NaOCl(차아염소산나트륨) 희석.
이소프로필 알코올 천, 70% 또는 에탄올, 70%	VWR, 카탈로그 번호 95041-714 또는 동급 일반 실험용품 공급업체	실행 전에 컴포넌트 세척 및 일반 용도.
일회용 장갑, 비분말성(powder-free)	일반 실험용품 공급업체	일반 용도.
보풀이 적게 이는 실험실용 티슈	VWR, 카탈로그 번호 21905-026 또는 동급	플로우 셀 대 건조 및 일반 용도.
미량원심분리기 튜브, 1.5ml	VWR, 카탈로그 번호 20170-038(또는 동급)	NaOH 및 라이브러리 희석 시 용량 혼합.
NaOCl, 5%	Sigma-Aldrich, 카탈로그 번호 239305	관리 세척 수행.
NovaSeq 5000/6000 시약 키트	Illumina, 카탈로그 번호는 1페이지의 9 페이지의 <a href="#">키트 개요</a> 참조	시퀀싱 실행 수행
트윈 20	Sigma-Aldrich, 카탈로그 번호 P7949	관리 세척 수행.
일반 실험실용 순수(1페이지의 19페이지의 <a href="#">일반 실험실용 순수 지침</a> )	일반 실험용품 공급업체	라이브러리 변성을 위해 NaOH 희석. 관리 세척을 위해 트윈 20 및 차아염소산 나트륨 희석.
[선택사항] PhiX 제어 v3	Illumina, 카탈로그 번호 FC-110-3001	PhiX 제어 주입.

## illumina 키트의 소모품

플로우 셀 하나를 시퀀싱하려면 하나의 NovaSeq 5000/6000 시약 키트가 필요합니다. 각 키트는 다음 표에 나열된 여러 소모품으로 구성됩니다. 이중 플로우 셀 실행의 경우 2개의 키트를 사용합니다.

표 6 NovaSeq 5000/6000 시약 키트의 소모품

소모품(각각 하나)	용도
완충제 카트리지	실행을 위한 시퀀싱 완충제를 제공합니다.
클러스터 카트리지	실행을 위한 클러스터링, 인덱싱 및 페어드 엔드 시약을 제공합니다.
플로우 셀	클러스터링 및 시퀀싱 반응이 플로우 셀에서 일어납니다.
SBS 카트리지	실행을 위한 시퀀싱 시약을 제공합니다.
라이브러리 튜브	시퀀싱을 위한 풀링 및 denaturation된 라이브러리(고객 제공)를 수용하는 데 사용되는 비어 있는 튜브.

## 일반 실험실용 순수 지침

항상 일반 실험실용 순수 또는 탈이온수를 사용하여 기기 절차를 수행합니다. 수돗물을 사용해서는 안 됩니다. 사용 가능한 물 등급 또는 동급의 물은 다음과 같습니다.

- ▶ 탈이온수
- ▶ Illumina PW1
- ▶ 18 메그옴(MΩ) 수
- ▶ Milli-Q 수
- ▶ Super-Q 수
- ▶ 분자 생물 실험용 순수

## 장비

품목	공급원
냉동고, -25°C~-15°C	일반 실험용품 공급업체
얼음통	일반 실험용품 공급업체
피펫, 단일 채널, 20µl	일반 실험용품 공급업체
피펫, 단일 채널, 200µl	일반 실험용품 공급업체
피펫, 단일 채널, 1000µl	일반 실험용품 공급업체
냉장고, 2°C~8°C	일반 실험용품 공급업체
통, 수조*	일반 실험용품 공급업체

\* 2개의 시약 카트리지와 적절한 수위의 물을 수용할 수 있는 통을 사용하십시오. 예: 61cm(24 in) × 91.4cm(36 in) × 25.4 cm(10 in)



## 4장 소모품 준비

방법 .....	20
라이브러리 지침 .....	20
SBS 및 클러스터 카트리지 해동 .....	20
시퀀싱을 위한 라이브러리 풀링 및 denaturation .....	21

### 방법

- ▶ 필요한 소모품과 장비가 있는지 확인합니다. 1페이지의 18페이지의 **사용자 공급 소모품 및 장비**.
- ▶ 소모품을 준비할 때 항상 라벨을 검사하여 컴포넌트 간의 호환성을 확인합니다. S1, S2 및 S4 컴포넌트를 혼합 및 일치시키지 마십시오.
- ▶ 지정된 용량, 온도 및 시간을 사용하여 표시된 순서대로 지침을 따릅니다.
- ▶ 지침에 중지 시점이 지정된 경우를 제외하고 다음 단계로 즉시 이동하십시오.

### 라이브러리 지침

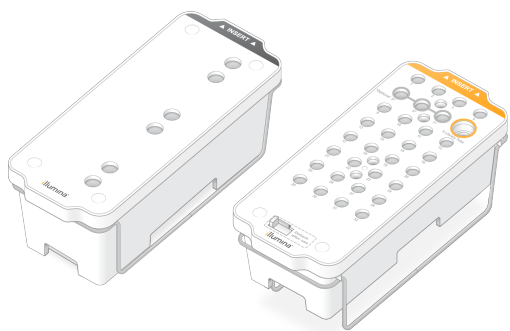
모든 지침은 지원되는 라이브러리 준비 방법에 적용되며, 지원되는 NovaSeq 6000 애플리케이션에 일반적인 삽입 크기를 가정합니다.

- ▶ 최상의 결과를 얻으려면 라이브러리를 풀링 및 변성하여 즉각적으로 시퀀싱하십시오.
- ▶ 라이브러리를 애플리케이션에 적절한 장착 농도로 희석하십시오. 장착 농도가 너무 낮거나 너무 높으면 필터 통과 클러스터의 비율(%PF)에 부정적인 영향을 미칩니다. 라이브러리 농도가 낮으면 시퀀싱 중복률이 증가합니다.
- ▶ 최적 %PF를 달성하려면 정확한 라이브러리 정량화 및 적절한 품질 관리가 필요합니다. 권장사항은 라이브러리 준비 키트 설명서를 참조하십시오.

### SBS 및 클러스터 카트리지 해동

- 1 SBS 및 클러스터 카트리지를  $-25^{\circ}\text{C} \sim -15^{\circ}\text{C}$  보관소에서 꺼냅니다.
- 2 각 카트리지를 해동용 와이어 랙에 둡니다.  
랙은 기기와 함께 제공되고 수조에서 카트리지가 뒤집히지 않도록 해줍니다.

그림 10 해동용 와이어 랙에 있는 카트리지



- 3 실온의 수조(19°C~25°C)에 넣어 해동합니다. 절반 정도만 담급니다. 아래 표를 사용하여 해동 기간을 결정합니다.

카트리지	해동 기간
S1 및 S2 클러스터 카트리지	최대 2시간
S1 및 S2 SBS 카트리지	4시간
S4 클러스터 카트리지	최대 4시간
S4 SBS 카트리지	최대 4시간



**참고**

시약을 다시 냉동해야 하는 경우 해동 직후 냉동하십시오. 시약은 한 번만 다시 냉동할 수 있습니다.

- 4 종이 타월을 사용하여 카트리지 바닥의 물기를 완전히 제거합니다. 웰 사이의 물기를 완전히 제거합니다.
- 5 알루미늄 포장지에 물기가 있는지 검사합니다. 물기가 있을 경우 보풀 없는 티슈로 물기를 완전히 닦아냅니다.
- 6 시약을 4시간 이내에 기기에 장착할 수 없는 경우 최대 24시간 동안 2°C~8°C에서 보관합니다.

## 시퀀싱을 위한 라이브러리 풀링 및 denaturation

### 정규화된 라이브러리 풀 만들기

다음 지침을 사용하여 라이브러리를 최소 1nM로 정규화한 다음 풀링합니다. 플로우 셀에 자동 장착된 라이브러리는 정규화된 풀 1개로 결합해야 합니다. 정규화된 풀의 총 용량은 모드(S1, S2, S4)에 따라 85µl, 150µl 또는 310µl입니다.

### 풀링할 라이브러리 정규화

- 1 원하는 최종 장착 농도를 기반으로 필요한 풀링된 라이브러리 농도를 결정합니다. 자세한 내용은 **권장 장착 농도**를 참조하십시오.

표 7 플로우 셀 1개의 농도

최종 장착 농도(pM)	풀링된 라이브러리 농도(nM)	총 용량(µl)		
		S1	S2	S4
200	1	85	150	310
250	1.25	85	150	310
300	1.5	85	150	310
350	1.75	85	150	310
400	2	85	150	310
450	2.25	85	150	310
500	2.5	85	150	310
550	2.75	85	150	310
600	3	85	150	310

- 2 10mM Tris-HCl pH, 8.5를 사용하여 원하는 풀링된 라이브러리 농도로 라이브러리를 정규화합니다. 라이브러리를 적절한 농도로 희석하는 방법에 대한 도움이 필요하면 [support.illumina.com/help/pooling-calculator/pooling-calculator.html](http://support.illumina.com/help/pooling-calculator/pooling-calculator.html)에서 풀링 계산기를 참조하십시오.

## 권장 장착 농도

최적 DNA 장착 농도는 라이브러리 유형 및 삽입 크기에 따라 다릅니다. 다음 표에는 삽입 크기가 450bp 이하인 Illumina 라이브러리를 기준으로 권장되는 DNA 장착 농도가 나와 있습니다. 권장 범위의 하한에 해당하는 보다 작은 삽입 크기로 라이브러리를 장착하십시오. 450bp를 초과하는 라이브러리의 경우 보다 높은 장착 농도가 필요할 수도 있습니다.

라이브러리 유형	최종 장착 농도(pM)	풀링된 장착 농도(nM)
PhiX*, 소프트웨어 버전 v1.0.3 이하 버전	300	1.5
PhiX*, 소프트웨어 버전 v1.1	175	1.5
DNA PCR 미사용 라이브러리 풀	250~350	1.25~1.75
DNA PCR 증폭 라이브러리 풀	400~600	2.0~3.0

\* PhiX 전용 실행에만 해당

HiSeq X®, HiSeq® 4000 또는 HiSeq 3000에 대한 장착 농도를 최적화한 경우 NovaSeq 6000에는 해당 농도의 1.5 배를 사용하십시오. 예를 들어, HiSeq X의 장착 농도가 200pM인 경우 NovaSeq 6000에는 300pM을 사용합니다.

## 정규화된 라이브러리 풀링 및 PhiX 제어(선택사항) 추가

- 1 새 미량원심분리기 튜브에서 1nM 이상으로 정규화된 각 라이브러리의 적절한 용량을 혼합하여 다음 최종 용량 중 하나로 만듭니다.

모드	최종 용량(µl)
S1	85
S2	150
S4	310

예를 들어, 6플렉스 라이브러리 풀 및 S2 모드의 경우 동일한 농도로 정규화된 라이브러리 각각을 25µl씩 혼합합니다. 또는 4플렉스 라이브러리 풀 및 S1 모드의 경우 denaturation되지 않은 정규화된 21.25µl의 라이브러리 각각을 혼합합니다.

- 2 [선택사항] **풀링되지 않은** 1nM 이상의 나머지 라이브러리는 -25°C~-15°C에서 보관합니다.
- 3 [선택사항] denaturation되지 않은 1% PhiX를 다음과 같이 주입합니다.
  - a 10mM Tris-HCl, pH 8.5를 사용하여 10nM PhiX를 2.5nM로 희석합니다.
  - b 적절한 용량의 denaturation되지 않은 2.5nM PhiX를 denaturation되지 않은 라이브러리 풀의 튜브에 첨가합니다.

모드	denaturation되지 않은 2.5nM PhiX(µl)	denaturation되지 않은 라이브러리 풀(µl)
S1	0.5	85
S2	0.9	150
S4	1.9	310

PhiX를 주입할 때 라이브러리의 밸런스를 잘 맞추기 위해 권장되는 양은 1%입니다. 다이버시티가 낮은 라이브러리에서는 더 필요할 수 있습니다. 다이버시티가 낮은 라이브러리에서 PhiX 제어를 사용하려면 Illumina 기술 지원 부에 지원을 문의합니다.

## 새 NaOH 희석액 준비

시퀀싱을 위해 라이브러리를 denaturation할 0.2N NaOH의 **새** 희석액을 준비합니다. 작은 피펫 작업 오류가 최종 NaOH 농도에 영향을 미치지 않도록 하기 위해 추가 용량이 준비됩니다.



**주의**

Denaturation 프로세스에는 깨끗하게 희석된 0.2 N NaOH 가 필요합니다. Denaturation이 적절하지 않으면 수율이 감소할 수 있습니다.

- 1 미량원심분리기 튜브의 다음 용량을 혼합하여 1N NaOH 를 0.2N으로 희석합니다.

표 8 S1/S2 모드

시약	플로우 셀 1개의 용량(μl)	플로우 셀 2개의 용량(μl)
일반 실험실용 순수	40	80
조제한 용액 1N NaOH	10	20

이러한 용량을 혼합하면 플로우 셀 1개의 경우 50μl 0.2N NaOH, 플로우 셀 2개의 경우 100μl 0.2N NaOH 가 만들어집니다.

표 9 S4 모드

시약	플로우 셀 1개의 용량(μl)	플로우 셀 2개의 용량(μl)
일반 실험실용 순수	80	160
조제한 용액 1N NaOH	20	40

이러한 용량을 혼합하면 플로우 셀 1개의 경우 100μl 0.2N NaOH, 플로우 셀 2개의 경우 200μl 0.2N NaOH 가 만들어집니다.

- 2 여러 차례 뒤집어 계속 혼합하거나 소용돌이를 만듭니다. 캡을 닫은 상태로 튜브를 보관하고 12시간 이내로 사용하십시오.

### 라이브러리 풀 및 PhiX 제어(선택사항) denaturation

- 1 다음과 같이 denaturation되지 않은 라이브러리 풀 튜브 및 PhiX(선택사항)에 0.2N NaOH를 첨가합니다.

플로우 셀	0.2 N NaOH	denaturation되지 않은 라이브러리 풀(μl)	만들어지는 용량
S1	21	85	106μl 또는 106.7μl(PhiX 포함)
S2	37	150	187μl 또는 187.9μl(PhiX 포함)
S4	77	310	387μl 또는 388.9μl(PhiX 포함)

- 2 캡을 덮고 잠시 소용돌이를 만듭니다.
- 3 280 × g에서 최대 1분간 원심분리합니다.
- 4 denaturation하려면 실온에서 8분 동안 배양합니다.
- 5 중화하려면 다음과 같이 400mM Tris-HCl, pH 8.0을 첨가합니다.

모드	400 Tris-HCl, pH 8.0 (μl)	만들어지는 용량
S1	21.5	127.5μl 또는 128.2μl(PhiX 포함)
S2	38	225μl 또는 225.9μl(PhiX 포함)
S4	78	465μl 또는 466.9μl(PhiX 포함)

- 6 캡을 덮고 잠시 소용돌이를 만듭니다.
- 7 280 × g에서 최대 1분간 원심분리합니다.

- denaturation 라이브러리 또는 denaturation 라이브러리 및 PhiX의 전체 용량을 키트와 함께 제공된 라이브러리 튜브에 옮깁니다.



**주의**

즉시 라이브러리 튜브를 클러스터 카트리지에 장착하고 실행을 설정하십시오. 라이브러리 튜브가 포함된 시약 카트리지를 30분 이내에 기기에 장착해야 합니다.

- [선택사항] 실행을 즉시 진행할 수 없는 경우 라이브러리 튜브의 캡을 닫고 -25°C~-15°C에서 최대 3주 동안 보관할 수 있습니다. 해동 후에는 다시 냉동하지 마십시오.



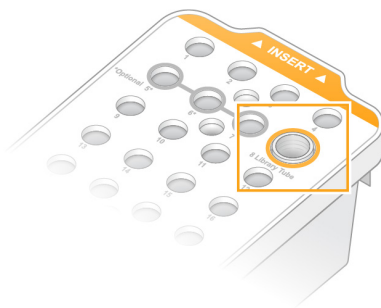
**주의**

필요한 경우에만 라이브러리 튜브를 보관하십시오. -25°C~-15°C에서 장기간 보관하면 중복률이 증가하여 수율이 감소할 수 있습니다.

## 라이브러리 튜브 장착

- 바닥에 있는 라이브러리가 섞이지 않도록 하면서 클러스터 카트리지의 라이브러리 튜브 위치(8번)에 캡을 닫지 않은 라이브러리 튜브를 삽입합니다.

그림 11 위치 8번에 장착된 캡을 닫지 않은 라이브러리 튜브



# 5장 시퀀싱

리드 주기 수 .....	25
시퀀싱 실행 설정 .....	25
실행 진행률 모니터링 .....	31
실행 삭제 .....	32
위치 30번 제거 .....	32
자동 실행 후 세척 .....	33

## 리드 주기 수


시퀀싱 실행 시 리드 및 리드 2에서 수행된 주기 수는 분석한 주기 수보다 하나가 더 많습니다. 예를 들어, 페어드 엔드 150주기를 실행하려면 총 302주기( $2 \times 151$ )가 되도록 리드 1 및 리드 2 필드에 151을 입력하십시오. 실행이 끝날 때  $2 \times 150$ 주기가 분석됩니다. 각 리드에서 여분의 주기는 계산을 위상화 및 사전 위상화하는 데 사용됩니다.

각 인덱스 리드에 대해 최대 20주기가 허용됩니다. 그러나 리드 1, 리드 2 및 인덱스 리드의 총 주기 수는 키트 주기 수(300, 200 또는 100)에 25를 더한 값을 초과할 수 없습니다. 추가 25개 주기는 7개의 어두운 주기를 포함하는 듀얼 인덱싱에 사용됩니다.

## 시퀀싱 실행 설정

- 다음과 같이 플로우 셀을 준비합니다.
    - 2°C~8°C의 보관소에서 새 플로우 셀 패키지를 꺼냅니다.
    - 응축을 방지하기 위해 개봉하지 않은 패키지를 실온에서 10~15분간 따로 보관합니다.
  - 다음과 같이 SBS 및 클러스터 카트리지를 준비합니다.
    - 각 카트리지의 하부를 검사하여 저장소에 얼음이 없는지 확인합니다. ice이는 시약이 해동되었음을 나타냅니다.
    - 각 카트리지를 10번 뒤집어 시약을 혼합합니다.
    - 작업대에서 각 카트리지 바닥을 가볍게 두드려 공기 방울을 제거합니다.
  - 기기 표면에서 모든 항목을 제거합니다.

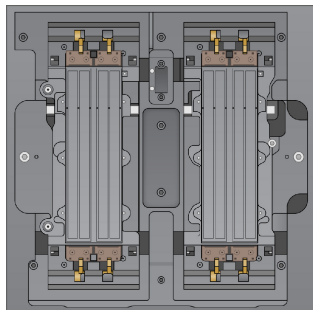
시퀀싱 실행 중에는 표면을 깨끗하게 유지하고 기기에 기대지 마십시오. 플로우 셀 도어에 압력을 가하면 도어가 열릴 수 있으며 도어가 열릴 경우 실행이 중지됩니다. 중지된 실행은 다시 시작할 수 없습니다.
  - Home(홈) 화면에서 Sequence(시퀀스)를 선택한 다음 단일 또는 이중 플로우 셀 실행을 선택합니다.
    - ▶ A+B-이중 플로우 셀 실행을 설정합니다.
    - ▶ A-A 측에서 단일 플로우 셀 실행을 설정합니다.
    - ▶ B-B 측에서 단일 플로우 셀 실행을 설정합니다.

소프트웨어는 장착부터 시작하여 일련의 실행 설정 화면을 초기화합니다.
-  **참고**  
단일 플로우 셀을 교차 실행합니다. 자세한 내용은 37페이지의 *플로우 셀 A 및 플로우 셀 B의 교차 실행을 참조하십시오.*
- OK(확인)를 선택하여 경고를 확인하고 플로우 셀 도어를 엽니다.

## 플로우 셀 장착

- 1 이전 실행에서 플로우 셀을 제거합니다(있는 경우).
- 2 플로우 셀 대에 미립자가 보이면 알코올 천으로 전체 대와 광학 배열 대상의 유리 표면을 닦습니다. 보풀 없는 티슈로 물기를 닦아냅니다.

그림 12 플로우 셀 대



- 3 다음과 같이 포장에서 플로우 셀을 꺼냅니다.
  - a 새 비분말성(powder-free) 장갑을 착용하여 플로우 셀의 유리 표면이 오염되지 않도록 합니다
  - b 알루미늄 포장지를 평평한 표면 위에 두고 각진 포장지의 끝에서부터 벗겨서 개봉합니다.
  - c 알루미늄 포장지에서 개폐형 케이스를 꺼냅니다.
  - d 개폐형 케이스를 열고 플로우 셀을 꺼냅니다. 유리나 가스킷 하부를 건드리지 않도록 플로우 셀 측면을 꼭 잡니다.
  - e 유리 표면에 미립자가 보이는 경우 보풀 없는 알코올 천으로 해당하는 표면을 닦고 보풀이 적게 이는 실험실용 티슈로 물기를 완전히 닦아냅니다.

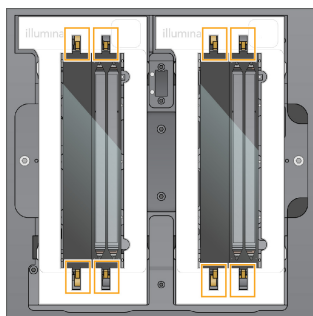


### 참고

플로우 셀의 일부 스크래치와 기타 사소한 표면적 결함은 정상이며 데이터 품질에 영향을 미치지 않습니다.

- 4 플로우 셀을 4개의 볼록한 클램프 위에 맞추고 플로우 셀 대에 놓습니다.

그림 13 클램프 위에 맞춰 장착한 플로우 셀

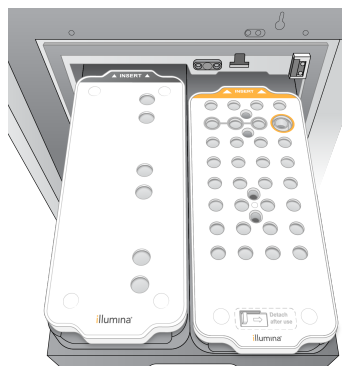


- 5 **Close Flow Cell Door(플로우 셀 도어 닫기)**를 선택합니다.  
플로우 셀 도어가 닫히고 센서 및 RFID를 확인한 후 화면에 플로우 셀 ID가 표시됩니다.

## SBS 및 클러스터 카트리지를 장착

- 1 액체 부분 도어를 연 다음 시약 냉각기 도어를 엽니다.
- 2 사용한 SBS 및 클러스터 카트리지를 제거합니다.  
사용한 카트리지는 구멍이 뚫린 알루미늄 포장지가 있습니다.
- 3 해당 표준에 따라 사용하지 않은 내용물을 폐기합니다.  
클러스터 카트리지의 위치 30번을 안전하게 폐기하려면 **32페이지의 위치 30번 제거**를 참조하십시오.
- 4 Insert(삽입) 라벨이 기기 뒤쪽을 향하도록 시약 냉각기 서랍에 다음과 같이 **준비된** 카트리지를 장착합니다.
  - ▶ SBS 카트리지(회색 라벨)는 왼쪽에 둡니다.
  - ▶ 캡을 닫지 않은 라이브러리 튜브가 포함된 클러스터 카트리지(주황색 라벨)는 오른쪽에 둡니다.

그림 14 장착된 시약 카트리지



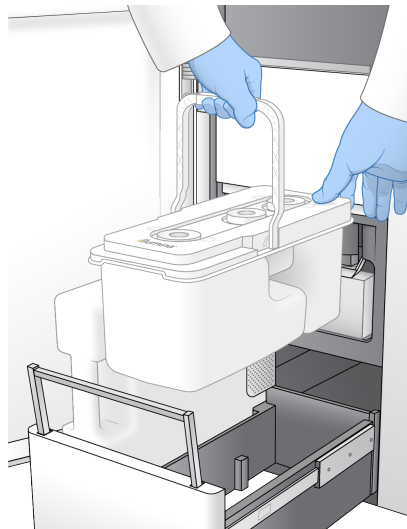
- 5 서랍을 냉각기로 밀어 넣은 다음 시약 냉각기 도어를 닫습니다.  
센서 및 RFID가 확인됩니다. 라이브러리 튜브 및 카트리지 2개의 ID가 화면에 표시됩니다.

## 완충제 카트리지를 장착

- 1 금속 손잡이를 당겨 완충제 서랍을 엽니다.
- 2 완충제 서랍 오른쪽에서 사용한 완충제 카트리지를 제거합니다.  
사용한 완충제 카트리지는 구멍이 뚫린 알루미늄 포장지가 있습니다. 사용한 완충제 카트리는 재활용할 수 있는 유일한 카트리지입니다.
- 3 Illumina **라벨이 기기 전면을 향하도록** 새 완충제 카트리지를 완충제 서랍에 넣습니다. 카트리지를 서랍 바닥과 측면에 있는 볼록한 가이드에 맞춥니다.  
적절하게 장착되면 완충제 카트리가 평평하게 장착되고 서랍을 닫을 수 있습니다.



그림 15 완충제 카트리지 장착



## 사용한 시약 병 비우기

다음 지침을 사용하여 시퀀싱 실행을 할 **때마다** 사용한 시약 병을 비웁니다. 시스템이 사용한 시약을 외부로 보내도록 구성된 경우에도 소용량 병은 사용한 시약을 수집하고 대용량 병은 제자리에 있어야 합니다.

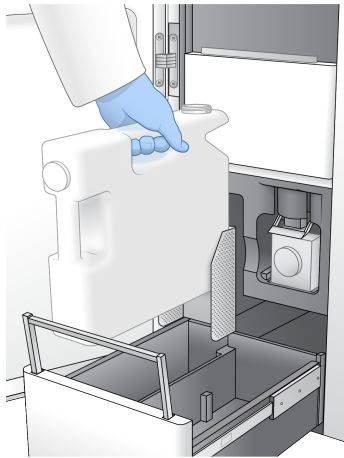


### 경고

이 시약 세트에는 위험할 수 있는 유해 화학물이 들어 있습니다. 흡입, 섭취하거나 피부 또는 눈에 접촉할 경우 인체에 상해를 입을 수 있습니다. 노출 위험에 적합한 보안경, 장갑, 실험실 가운 등의 보호 장비를 착용하십시오. 사용한 시약은 화학 폐기물로 처리하고 해당되는 국가 및 지역 법률과 규정에 따라 폐기하십시오. 자세한 환경, 보건건강, 및 안전 정보는 [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html)에서 SDS를 참조하십시오.

- 1 다음과 같이 사용한 소용량 시약 병을 꺼내서 비웁니다.
  - a 레버를 올리고 알코브에서 사용한 소용량 시약 병을 꺼냅니다. 병의 측면을 꼭 집니다.
  - b 병의 전면에 있는 캡 홀더에서 나사식 캡을 제거합니다.
  - c 병 입구를 캡으로 밀폐하여 엇질러지지 않도록 합니다.
  - d 내용물은 다른 병의 내용물과 따로 보관하고 관련 기준에 따라 폐기합니다.
  - e 캡을 닫지 않은 병을 알코브에 다시 넣은 다음 레버를 내립니다. 캡을 캡 홀더에 보관합니다.
- 2 다음과 같이 사용한 대용량 시약 병을 꺼내서 비웁니다.
  - a 상단 손잡이를 사용하여 완충제 카트리지 왼쪽에서 사용한 대용량 시약 병을 꺼냅니다.
  - b 병의 전면에 있는 캡 홀더에서 나사식 캡을 제거합니다.
  - c 병 입구를 나사식 마개로 밀폐하여 엇질러지지 않도록 합니다.
  - d 관련 기준에 따라 내용물을 폐기합니다. 비울 때는 두 손잡이를 잡습니다.
  - e 캡을 닫지 않은 병은 완충제 서랍에 다시 넣습니다. 캡을 캡 홀더에 보관합니다.

그림 16 빈 병 다시 넣기



- 3 새 비분말성(powder-free) 장갑을 착용하여 기기의 표면이 오염되지 않도록 합니다.
- 4 완충제 서랍을 닫은 다음 액체 부분 도어를 닫습니다.  
센서 및 RFID 를 확인한 후 화면에 완충제 카트리지 ID 가 표시됩니다.
- 5 사용한 두 시약 병이 비어 있다는 것을 확인하는 체크박스를 선택합니다.



**경고**

사용한 시약 병이 비워지지 않을 경우 실행이 종료되고 흘러 넘칠 수 있으며 기기가 손상되어 안전 위험에 노출됩니다.

- 6 다음 중 사용 가능한 버튼을 선택합니다.
  - ▶ **Log In(로그인)** – BaseSpace 시퀀스 허브에 로그인할 수 있는 Log In(로그인) 화면을 엽니다. *BaseSpace 시퀀스 허브 로그인*을 계속합니다.
  - ▶ **Run Setup(실행 설정)** – BaseSpace 시퀀스 허브를 건너뛰고 실행 매개변수를 입력할 수 있는 Run Setup (실행 설정) 화면을 엽니다. 1페이지의 *30페이지의 실행 매개변수 입력*.

사용 가능한 버튼은 시스템이 BaseSpace 시퀀스 허브에 대해 구성되었는지 여부에 따라 다릅니다.

## BaseSpace 시퀀스 허브 로그인

- 1 [선택사항] 현재 실행에 맞게 BaseSpace 시퀀스 허브 설정을 업데이트합니다.
  - ▶ BaseSpace 시퀀스 허브를 비활성화하려면 BaseSpace Sequence Hub(BaseSpace 시퀀스 허브) 체크박스를 선택 취소한 다음 Run Setup(실행 설정)을 선택하여 로그인하지 않고 진행합니다.
  - ▶ 원격 모니터링 및 데이터 분석을 위해 BaseSpace 시퀀스 허브로 실행 데이터를 보내려면 Run Monitoring and Storage(실행 모니터링 및 저장)를 선택합니다. 이 옵션에는 샘플 시트가 필요합니다.
  - ▶ InterOp 파일, runinfo.xml 및 runParameters.xml을 BaseSpace 시퀀스 허브로 전송하여 실행을 원격으로 모니터링하려면 Run Monitoring(실행 모니터링만)을 선택합니다.
- 2 BaseSpace 시퀀스 허브 사용자 이름과 암호를 입력한 다음 Sign In(로그인)을 선택합니다.
- 3 메시지가 표시되면 실행 데이터를 업로드할 작업 그룹을 선택한 다음 Run Setup(실행 설정)을 선택합니다. 여러 작업 그룹에 속해 있는 경우에만 메시지가 표시됩니다.

## 실행 매개변수 입력

- 1 Run Name(실행 이름) 필드에 원하는 실행 이름을 입력하여 현재 실행을 식별합니다. 실행 이름은 영숫자, 하이픈 및 밑줄을 포함할 수 있습니다.
- 2 시퀀싱 실행에서 각 리드의 주기 수를 입력합니다.
  - ▶ Read 1(리드 1)—최대 151주기 값을 입력합니다.
  - ▶ Index 1(인덱스 1)—인덱스 1(i7) 프라이머에 대해 최대 20주기 값을 입력합니다.
  - ▶ Index 2(인덱스 2)—인덱스 2(i5) 프라이머에 대해 최대 20주기 값을 입력합니다.
  - ▶ Read 2(리드 2)—최대 151주기 값을 입력합니다. 보통 이 값은 Read 1(리드 1) 값과 동일합니다.
- 3 Advanced Options(고급 옵션)를 확장하여 현재 실행에 설정을 적용합니다. 이러한 설정은 별도의 표시가 없을 경우 선택사항입니다.
  - ▶ Custom Primers(사용자 지정 프라이머) – Custom Primers(사용자 지정 프라이머) 체크박스를 선택한 후 다음 중 적절한 체크박스를 선택합니다.
    - ▶ Read 1(리드 1) – 리드 1에 사용자 지정 프라이머를 사용합니다.
    - ▶ Read 2(리드 2) – 리드 2에 사용자 지정 프라이머를 사용합니다.
    - ▶ Custom Index(사용자 지정 인덱스) – 리드 1에 사용자 지정 인덱스를 사용합니다.
  - ▶ Output Folder(아웃풋 폴더)—Browse(찾아보기)를 선택하여 현재 실행에 대한 아웃풋 폴더를 변경합니다. 저장 위해 해당 실행을 BaseSpace 시퀀싱 허브에 연결하지 않은 경우 아웃풋 폴더는 필수입니다.
  - ▶ Attachment(첨부 파일) – Browse(찾아보기)를 선택하여 샘플 시트를 업로드합니다. 이는 실행 모니터링 및 저장 또는 기타 CSV 파일에 BaseSpace 시퀀싱 허브를 사용 중인 경우 필수입니다. CSV 파일은 아웃풋 폴더로 복사되며 실행 매개변수에 영향을 주지 않습니다.
- 4 Review(검토)를 선택합니다. 소프트웨어는 지정된 매개변수가 레시피로 적절한지 확인합니다.

## 실행 매개변수 확인

- 1 Review(검토) 화면에 실행 매개변수 확인이 표시됩니다.
- 2 [선택사항] Run Setup(실행 설정) 화면으로 돌아가서 실행 매개변수를 편집하려면 Back(뒤로)을 선택하십시오.
- 3 Start Run(실행 시작)을 선택합니다. 실행 전 검사가 자동으로 시작됩니다.

## 실행 전 검사 검토

실행 전 검사에 성공하면 시퀀싱 실행이 자동으로 시작되며 약 5분이 소요됩니다. 실행을 시작하려면 모든 오류를 해결해야 합니다. 1페이지의 39페이지의 [실행 전 검사 오류](#).



### 참고

하드 드라이브 용량을 초과하지 않으려면 실행 시작 후 데이터를 C:\w로 복사하지 마십시오.

- 1 실행 전 검사에 실패한 경우 Retry(재시도)를 선택하여 실패한 검사를 다시 시작하거나 Retry All(모두 재시도)을 선택하여 모든 검사를 다시 시작합니다. 오류 세부 정보를 보려면 Error(오류) 아이콘을 선택하십시오.

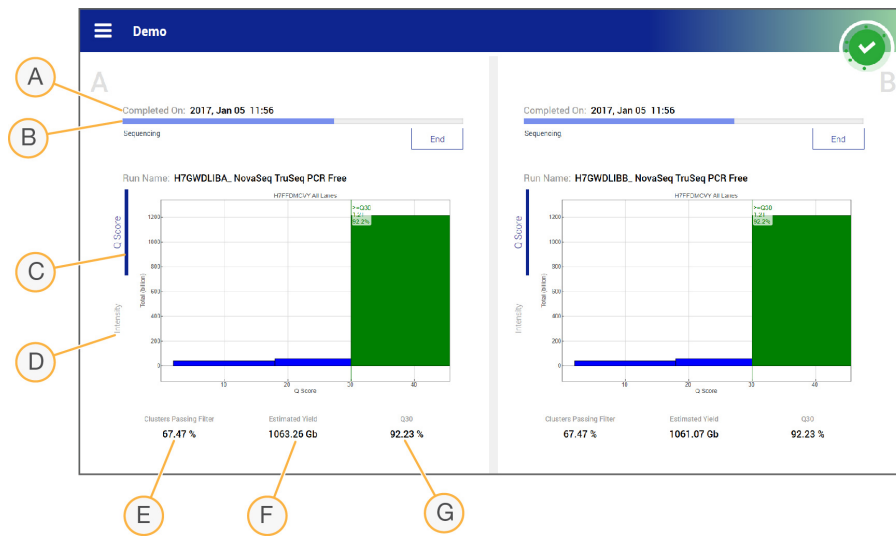
2 배열 검사에 실패한 경우 다음과 같이 오류를 해결하십시오.

- a Reload(다시 장착)를 선택한 다음 OK(확인) 를 선택하여 Load(장착) 화면으로 돌아가는 것을 확인합니다.
- b 기기 표면에서 모든 항목을 제거한 다음 OK(확인)를 선택합니다.
- c 플로우 셀을 다시 장착한 다음 Run Setup(실행 설정)을 선택합니다.
- d 각 화면을 진행하여 각 RFID를 다시 읽고 Pre-Run Check(실행 전 검사) 화면으로 돌아갑니다.
- e 검사를 다시 수행합니다.

### 실행 진행률 모니터링

- 1 메트릭이 화면에 표시되면 실행 진행률, 인텐시티 및 quality score를 모니터링합니다. 실행 메트릭에 대한 자세한 내용은 43페이지의 **실시간 분석**을 참조하십시오.

그림 17 시퀀싱 실행 진행률 및 메트릭



- A Time to completion(완료 시간) - 실행 완료 날짜 및 시간(yyy-mm-dd hh:mm)입니다.
- B Run progress(실행 진행률) - 현재 실행 단계입니다. 진행률 표시줄은 각 단계의 실행률에 비례하지 않습니다.
- C Q-Score(Q-점수) - quality score(Q-점수) 분포입니다.
- D Intensity(인텐시티) - 90번째 백분위수로 각 타일의 클러스터 인텐시티 값입니다. 그래프 색상은 빨간색 및 녹색 채널을 나타냅니다.
- E Clusters Passing Filter(필터 통과 클러스터)(%) - 필터를 통과한 클러스터의 백분율입니다.
- F Estimated Yield(추정 수율)(Gb) - 실행에 대한 예상 염기 수입니다.
- G Q30-Q-점수가 30 이상인 실행의 base calls 백분율입니다.

### 실행 메트릭

소프트웨어에 실행하는 동안 생성된 메트릭이 표시됩니다. 메트릭은 RTA3에서 생성된 후 InterOp 파일에 기록되는 데이터를 기반으로 도면, 그래프 및 표 형식으로 표시됩니다.

클러스터링에는 약 2시간이 소요되며 이후 주기 1로 시퀀싱이 시작됩니다. 시퀀싱이 진행되면 메트릭이 업데이트됩니다. 26주기 후에는 필터 통과 클러스터, 수율 및 quality score(Q-점수)를 사용할 수 있습니다.

### 처리 상태

Process Management(프로세스 관리) 화면에는 각 실행 상태가 나열됩니다. Main Menu(메인 메뉴)에서 Process Management(프로세스 관리)를 선택합니다.

각 실행 이름에 대해 프로세스 관리에 상태가 표시되는 프로세스는 다음과 같습니다.

- ▶ Run Status(실행 상태)—CBCL 파일 처리를 기반으로 합니다.
- ▶ Network—범용 복사 서비스를 사용한 파일 전송을 기반으로 합니다.
- ▶ BaseSpace—BaseSpace 시퀀스 허브로의 파일 업로드를 기반으로 합니다(해당되는 경우).

프로세스가 완료되면 녹색 확인 표시가 나타납니다. 자세한 정보는 1페이지의 7페이지의 프로세스 관리.

### 실행 삭제

데이터 전송이 완료되면 Process Management(프로세스 관리)에서 현재 실행을 삭제하여 후속 실행을 위한 공간을 확보할 수 있습니다. 실행을 삭제하면 시스템 관리 파일을 제거하거나 네트워크 또는 BaseSpace 시퀀스 허브 복사에 영향을 주지 않고 CE 및 C:\W가 지워집니다. 시퀀싱 중인 실행은 삭제할 수 없습니다.

- 1 Main Menu(메인 메뉴)에서 Process Management(프로세스 관리)를 선택합니다.
- 2 [선택사항] 각 실행 프로세스에 데이터 전송이 완료되었음을 나타내는 녹색 확인 표시가 표시되는지 확인합니다. 네트워크 또는 BaseSpace 시퀀스 허브로 전송이 완료되지 않은 실행도 삭제할 수 있지만 모든 실행 데이터가 손실됩니다.
- 3 Delete Run(실행 삭제)을 선택한 다음 Yes(예)를 선택하여 확인합니다.
- 4 Done(완료)을 선택합니다.

### 위치 30번 제거

클러스터 카트리지의 위치 30번 저장소에는 폼아마이드가 들어 있습니다. 폼아마이드는 사용한 클러스터 카트리지에서 제거되며 별도로 폐기합니다.



#### 경고

이 시약 세트에는 위험할 수 있는 유해 화학물이 들어 있습니다. 흡입, 섭취하거나 피부 또는 눈에 접촉할 경우 인체에 상해를 입을 수 있습니다. 노출 위험에 적합한 보안경, 장갑, 실험실 가운 등의 보호 장비를 착용하십시오. 사용한 시약은 화학 폐기물로 처리하고 해당되는 국가 및 지역 법률과 규정에 따라 폐기하십시오. 자세한 환경, 보건건강, 및 안전 정보는 [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html)에서 SDS를 참조하십시오.

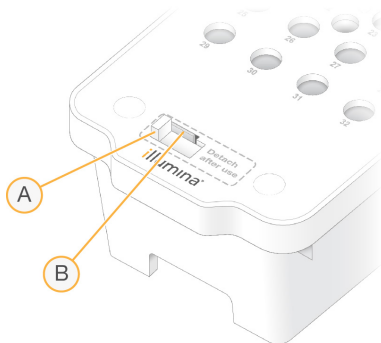
- 1 장갑을 착용하고 Detach after use(사용 후 제거)라는 라벨이 지정된 흰색 플라스틱 탭을 오른쪽으로 누릅니다.
- 2 손으로 또는 저장소 아래 표면으로 투명 플라스틱 탭을 Illumina 라벨 쪽으로 눌러 클러스터 카트리지 아래에서 저장소를 해제합니다.



#### 참고

보관 시 클러스터 카트리지를 쌓아 놓지 마십시오. 쌓아 놓으면 저장소가 우발적으로 분리될 수 있습니다.

그림 18 제거 가능한 위치 30번



- A 제거할 흰색 플라스틱 탭
- B 해제할 투명 플라스틱 탭

3 해당 표준에 따라 저장소를 폐기합니다.

## 자동 실행 후 세척

시퀀싱이 완료되면 소프트웨어가 약 80분이 소요되는 자동 실행 후 세척을 시작합니다. 위치 17번에서 0.24% 차아염소산나트륨( $\text{NaOCl}$ )이 펌프되어 0.12%로 희석됩니다. 0.12%  $\text{NaOCl}$ 은 ExAmp 시약 및 라이브러리 위치로 펌프된 다음 플로우 셀을 통해 사용된 시약 병으로 펌프됩니다. 교차 오염을 방지하기 위해 시스템에서 템플레이트를 세척합니다.

세척이 완료되면 시스템이 안전 상태가 되면서 Home(홈) 버튼이 활성화됩니다. 다음 실행을 수행할 때까지 소모품을 제자리에 둡니다. 세척 이후에는 Sipper를 SBS 및 클러스터 카트리지에 그대로 뒤 시스템에 공기가 유입되지 않도록 합니다. 사용된 시약 병을 비울 수 있도록 완충제 카트리지에 있는 Sipper를 올립니다.

# 6장관리

예방 관리 .....	34
관리 세척 수행 .....	34
플로우 셀 A 및 플로우 셀 B의 교차 실행 .....	37
소프트웨어 업데이트 .....	37

## 예방 관리

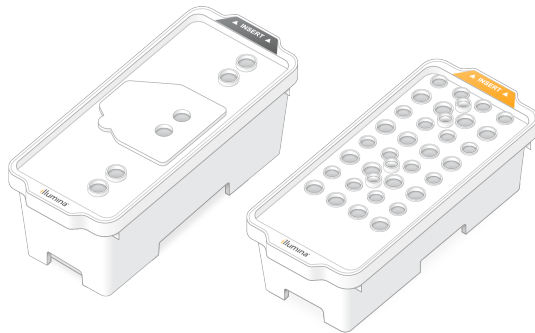
Illumina에서는 매년 예방 관리 서비스를 예약할 것을 권장합니다. 서비스 계약 기간이 지난 경우 해당 지역 계정 관리자나 Illumina 기술 지원 부서에 연락해 유료 예방 관리 서비스를 요청하십시오.

## 관리 세척 수행

14일마다 사용자 공급 희석액 Tween 20 및 NaOCl로 시스템을 세척하는 관리 세척을 수행하라는 메시지가 표시됩니다. 희석액은 모든 Sipper를 세척하기 위해 세척 카트리지에서 플로우 셀, 사용한 시약 병 및 각 카트리지 저장소로 펌프됩니다. 세척 시간은 약 80분입니다.

관리 세척에는 사용한 완충제 카트리지와 SBS 세척 카트리지, 클러스터 세척 카트리지 및 기기와 함께 제공된 레인 세척 플로우 셀이 필요합니다. 시약 카트리지와 마찬가지로 세척 카트리지도 장착 오류를 방지하기 위해 색상으로 구분되어 있습니다. SBS 세척 카트리지에는 트윈 20 희석액을 위한 중앙 웰이 있습니다. NaOCl 희석액은 클러스터 세척 카트리지에 있는 저장소에 추가됩니다.

그림 19 SBS 세척 카트리지(왼쪽) 및 클러스터 세척 카트리지(오른쪽)

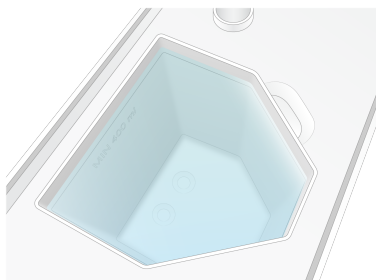


## 세척액 준비

- 1 일반 실험실용 순수 400ml를 500ml 원심분리병에 추가합니다.
- 2 100% 트윈 20 0.2ml를 추가하면 0.05% 트윈 20 세척액 400ml를 만듭니다.  
새로 준비한 트윈 20 희석액을 사용하여 플루이딕 시스템에 미생물이 들어가는 것을 방지합니다.
- 3 뒤집어서 혼합합니다.
- 4 SBS 세척 카트리지의 중앙 웰에서 뚜껑을 제거합니다.

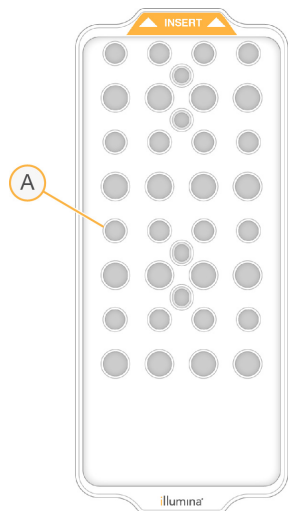
- 5 중앙 웰에 세척액을 추가합니다. 채움 라인(필요한 최소 용량을 나타냄)까지 채웁니다. 다른 저장소는 빈 채로 둡니다.

그림 20 400ml까지 채운 중앙 웰



- 6 30ml 원심분리 튜브에 다음 용량을 섞어 20ml의 0.25% NaOCl을 준비합니다.
  - ▶ 5% NaOCl(1ml)
  - ▶ 탈이온수(19ml)
- 7 뒤집어서 혼합합니다.
- 8 0.25% NaOCl 5ml를 클러스터 세척 카트리지에 추가합니다. 올바른 저장소는 사전 충전 시약 카트리지의 위치 17번에 해당합니다. 다른 모든 저장소는 빈 채로 둡니다.

그림 21 0.25% NaOCl 위치



## 세척 플로우 셀 장착

- 1 기기 표면에서 모든 항목을 제거합니다. 관리 세척 실행 중에는 표면을 깨끗하게 유지하고 기기에 기대지 마십시오. 플로우 셀 도어에 압력을 가하면 도어가 열릴 수 있고 그렇게 되면 세척이 중지됩니다.
- 2 Home(홈) 화면에서 Wash(세척)를 선택한 후 다음 중에서 세척할 면을 선택합니다.
  - ▶ A+B-양측을 동시에 세척합니다.
  - ▶ A-A 측만 세척합니다.
  - ▶ B-B 측만 세척합니다.소프트웨어에서 일련의 세척 화면을 표시합니다.



- 3 OK(확인)를 선택하여 경고를 확인하고 플로우 셀 도어를 엽니다.
- 4 세척 플로우 셀이 아직 없는 경우 하나를 장착합니다.
- 5 Close Flow Cell Door(플로우 셀 도어 닫기)를 선택합니다.  
도어가 닫히고 센서 및 RFID를 확인한 후 화면에 플로우 셀 ID가 표시됩니다.

## 세척 카트리지를 장착

세척 카트리지 및 플로우 셀은 관리 세척에 필요합니다. 사용한 실행 소모품은 사용하지 마십시오.

- 1 액체 부분 도어를 연 다음 시약 냉각기 도어를 엽니다.
- 2 사용한 SBS 및 클러스터 시약 카트리지를 제거합니다. 해당 표준에 따라 사용하지 않은 내용물을 폐기합니다. 클러스터 카트리지의 위치 30번을 안전하게 폐기하려면 **32페이지의 위치 30번 제거**를 참조하십시오.
- 3 Insert(삽입) 라벨이 기기 뒤쪽을 향하도록 시약 냉각기 서랍에 세척 카트리지를 장착합니다.
  - ▶ SBS 카트리지(회색 라벨)는 왼쪽에 둡니다.
  - ▶ 클러스터 카트리지(주황색 라벨)는 오른쪽에 둡니다.
- 4 서랍을 냉각기로 밀어 넣은 다음 시약 냉각기 도어를 닫습니다.  
센서를 확인하고 각 카트리지의 RFID를 스캔한 후 화면에 표시합니다.
- 5 완충제 서랍을 엽니다.
- 6 완충제 서랍이 아직 없다면 사용한 완충제 카트리지를 장착합니다.

## 사용한 시약 병 비우기

다음 지침을 사용하여 관리 세척을 할 **때마다** 사용한 시약 병을 비웁니다. 시스템이 사용한 시약을 외부로 보내도록 구성된 경우에도 소용량 병은 사용한 시약을 수집하고 대용량 병은 제자리에 있어야 합니다.



### 경고

이 시약 세트에는 위험할 수 있는 유해 화학물이 들어 있습니다. 흡입, 섭취하거나 피부 또는 눈에 접촉할 경우 인체에 상해를 입을 수 있습니다. 노출 위험에 적합한 보안경, 장갑, 실험실 가운 등의 보호 장비를 착용하십시오. 사용한 시약은 화학 폐기물로 처리하고 해당되는 국가 및 지역 법률과 규정에 따라 폐기하십시오. 자세한 환경, 보건건강, 및 안전 정보는 [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html)에서 SDS를 참조하십시오.

- 1 사용한 소용량 시약 병을 꺼내서 해당 표준에 따라 내용물을 폐기합니다. 내용물은 다른 병의 내용물과 따로 보관합니다.
- 2 사용한 소용량 시약 용기는 알코브에 둡니다.
- 3 사용한 대용량 시약 병을 꺼내서 해당 표준에 따라 내용물을 폐기합니다.
- 4 사용한 대용량 시약 병은 완충제 서랍에 둡니다.
- 5 새 비분말성(powder-free) 장갑을 착용합니다.
- 6 완충제 서랍을 닫은 다음 액체 부분 도어를 닫습니다.  
센서 및 RFID가 확인됩니다. 각 세척 컴포넌트 ID가 화면에 표시됩니다.

## 세척 시작

- 1 사용한 두 시약 병이 비어 있음을 확인하는 체크박스를 선택한 다음 Start Wash(세척 시작)를 선택합니다. 세척 시작 및 예상 세척 완료 시간이 표시됩니다.



### 경고

사용한 시약 병이 비워지지 않을 경우 세척이 종료되고 흘러넘칠 수 있으며 기기가 손상되어 안전 위험에 노출됩니다.

- 2 세척이 완료되면 Home(홈)을 선택합니다.
- 3 다음 실행을 수행할 때까지 소모품을 제자리에 둡니다.  
Sipper를 SBS 및 클러스터 카트리지에 그대로 뒤 시스템에 공기가 유입되지 않도록 합니다. 사용된 시약 병을 비울 수 있도록 완충제 카트리지에 있는 Sipper를 올립니다.

## 플로우 셀 A 및 플로우 셀 B의 교차 실행

소프트웨어는 플로우 셀 A와 플로우 셀 B에서 교차 실행을 허용합니다. 새 실행을 설정하면 소프트웨어가 필요에 따라 인접한 플로우 셀에서 실행을 자동으로 일시 중지한 다음 다시 시작합니다. 일시 중지되면 시스템이 안전 상태가 됩니다.

- 1 Home(홈) 화면에서 Sequence(시퀀스)를 선택한 다음 A 또는 B를 선택합니다.
- 2 인접한 플로우 셀이 일시 중지될 때까지 다음과 같이 기다립니다. 새 실행을 취소하고 일시 중지를 막으려면 Cancel(취소)을 선택합니다.  
인접한 실행에서 클러스터 생성, 페어드 엔드 재합성, 이미지 생성 또는 세척을 수행 중인 경우 소프트웨어에서 일시 중지되기 전에 현재 단계를 완료합니다.
- 3 인접한 실행이 일시 중지되고 플로우 셀 도어가 열리면 새 실행을 설정합니다.  
새 실행이 시작되면 일시 중지된 실행이 자동으로 다시 시작된 다음 새 실행을 시작합니다.

## 소프트웨어 업데이트



### 참고

소프트웨어 업데이트를 확인하고 업데이트를 다운로드하기 위해서는 NovaSeq 6000이 인터넷에 연결되어 있어야 합니다.

소프트웨어 업데이트는 제어 소프트웨어에서 다운로드 및 설치할 수 있습니다. 소프트웨어 업데이트 자동 확인은 기본적으로 활성화되어 있습니다. Settings(설정)에서 자동 업데이트를 활성화하거나 비활성화할 수 있습니다.

업데이트 자동 확인은 24시간마다 수행됩니다. 업데이트가 사용 가능하면 Main Menu(메인 메뉴)에 알림이 표시됩니다.



### 참고

시퀀싱 실행, 세척, 실행 설정 또는 출력 폴더나 BaseSpace 시퀀스 허브로의 파일 전송이 진행 중이면 소프트웨어를 업데이트할 수 없습니다.

업데이트를 수동으로 확인하거나 업데이트를 다운로드 및 설치하려면 다음을 수행하십시오.

- 1 Main Menu(메인 메뉴)에서 Software Update(소프트웨어 업데이트)를 선택합니다.  
Software Update(소프트웨어 업데이트) 화면이 표시됩니다. 소프트웨어 업데이트 자동 확인이 활성화되지 않으면 업데이트를 수동으로 확인하거나 자동 확인을 활성화할 수 있습니다.
- 2 업데이트를 다운로드 및 설치하기 하려면 다운로드 및 설치에 약 30분이 걸린다는 확인란을 선택합니다.
- 3 Download and Install(다운로드 및 설치)을 선택합니다.  
다운로드가 완료되면 제어 소프트웨어가 닫히고 설치 프로그램이 실행됩니다. 설치 프로그램 지침에 따라 설치를 완료합니다.  
다운로드 또는 설치 동안 오류가 발생하면 Illumina 기술 지원 부서에 문의하십시오.

# 부록 A 문제 해결

문제 해결 리소스 .....	39
문제 해결 파일 .....	39
실행 전 검사 오류 .....	39
프로세스 관리 문제 해결 .....	40
클러스터링하기 전 실행 실패 .....	40
실행 종료 .....	41
기기 종료 .....	42

## 문제 해결 리소스

기술 관련 문의 사항이 있는 경우 Illumina 웹사이트의 NovaSeq 6000 시퀀싱 시스템 지원 페이지를 방문하시기 바랍니다. 지원 페이지에서 설명서, 다운로드, 자주 묻는 질문과 답변에 액세스할 수 있습니다. 지원 게시판에 접근하려면 사용자의 MyIllumina 계정으로 로그인하십시오.

실행 품질이나 성능 문제는 Illumina 기술 지원 부서에 문의하시기 바랍니다. 58페이지의 기술 지원을 참조하십시오. 문제를 수월하게 해결할 수 있도록 BaseSpace 시퀀스 허브의 실행 요약 링크를 Illumina 기술 지원 부서와 공유하는 것이 좋습니다.

## 문제 해결 파일

주요 파일	폴더	설명
실행 정보 파일 (RunInfo.xml)	루트 폴더	다음과 같은 실행 설정을 포함합니다. · 실행의 주기 수 · 실행의 리드 수 · 리드가 인덱스인지 여부 · 플로우 셀의 스와스(swath) 및 타일 수
실행 매개변수 파일 (RunParameters.xml)	루트 폴더	실행 이름, 실행 매개변수 정보 및 일련 번호, 제품 번호, 유효 기간 및 카탈로그 번호와 같은 RFID 정보를 비롯한 실행 컴포넌트를 포함합니다.
InterOp 파일(*.bin)	InterOp	시퀀싱 분석 뷰어에 사용되는 이진 보고 파일입니다. InterOp 파일은 실행 과정에 걸쳐 업데이트됩니다.
로그 파일	로그	로그 파일은 주기마다 기기에서 수행되는 각 단계(사용한 시약 포함)를 설명하고, 실행에 사용되는 소프트웨어 및 펌웨어 버전이 표시됩니다. [InstrumentName]_CurrentHardware.csv라는 파일에는 기기 구성요소의 일련 번호가 표시됩니다.

## 실행 전 검사 오류

실행 전 검사 중에 오류가 발생하는 경우 다음 조치를 통해 오류를 해결하십시오. 이중 플로우 셀 실행을 설정했는데 한 쪽이 실패한 경우 실패한 쪽을 취소하고 통과한 쪽을 진행하면 됩니다.

실행 전 검사에 실패한 경우 플로우 셀, 시약 및 완충제의 RFID가 잠기기 때문에 후속 실행에서 소모품을 사용할 수 있습니다. 실행이 시작되면 Sipper가 시약 카트리지의 알루미늄 포장지에 구멍을 뚫고 모든 RFID가 잠깁니다.

시스템 검사	실패 이유	권장 조치
센서	부분 도어가 열려 있거나, 소모품이 적절하게 장착되지 않았거나, 최소 1개의 센서가 작동하지 않습니다.	Retry( <b>재시도</b> )를 선택하고 화면의 메시지에 따라 오류를 해결합니다.
디스크 공간	아웃풋 폴더의 지정된 위치가 꽉 차서 디스크 공간이 부족합니다.	Process Management(프로세스 관리) 화면을 사용하여 지정된 아웃풋 폴더 위치에서 디스크 공간을 확보합니다.
시스템 연결 상태	RTA3, 플루이딕 시스템에 대한 연결 또는 다른 연결이 중단되었습니다.	Retry( <b>재시도</b> )를 선택하고 화면의 메시지에 따라 오류를 해결합니다.
배열	플로우 셀 위치가 이미지 생성을 차단합니다.	화면의 메시지에 따라 플로우 셀을 다시 장착합니다.

## 누수함

누수함은 누수된 시약이나 냉각수를 수집하고 사용한 시약 병에서 흘러넘친 액체를 수집하기 위해 기기 바닥에 장착되어 있습니다. 정상적인 상태에서는 누수함이 말라 있습니다. 누수가 있다는 것은 기기에 문제가 있다는 뜻이고 사용한 시약 병을 정기적으로 비우지 않을 경우 흘러넘칩니다.

실행 전 검사 중 센서가 누수함에 액체가 있는지 여부를 감지합니다.

- ▶ 누수함에 액체가 있지만 가득 차지는 않은 경우 실행을 계속할 수 있지만 Illumina 기술 지원 부서에 문의해야 합니다.
- ▶ 누수함이 가득 찬 경우 실행을 계속할 수 없으며 Illumina 기술 지원 부서에 문의해야 합니다.



### 경고

사용한 시약 병은 **실행할 때마다** 비웁니다. 사용한 소용량 시약 병이 가득 차면 실행이 중지됩니다. 사용한 대용량 시약 병이 흘러넘쳐 기기가 손상된 경우 Illumina 담당자가 현장을 방문하여 안전 위험을 제거해야 합니다.

## 프로세스 관리 문제 해결

다음 표에는 Process Management(프로세스 관리) 화면의 N/A(해당 없음) 아이콘에 대한 문제 해결 옵션이 나와 있습니다.

- ▶ 실행이 BaseSpace 시퀀싱 허브에 업로드하도록 구성되었는데 BaseSpace 열에 N/A(해당 없음) 아이콘이 표시됩니다.
- ▶ 실행이 네트워크의 아웃풋 폴더에 업로드하도록 구성되었는데 Network(네트워크) 열에 N/A(해당 없음) 아이콘이 표시됩니다.

실행 상태	문제 해결 조치
실행이 진행 중인 경우	Process Management(프로세스 관리) 화면을 닫고 약 5분간 기다린 후 화면을 다시 엽니다.
실행이 진행 중이지 않은 경우	기기를 종료했다가 다시 시작한 후 Process Management(프로세스 관리) 화면을 다시 엽니다.

문제 해결 조치를 완료한 후에도 N/A(해당 없음) 아이콘이 표시되면 Illumina 기술 지원 부서에 문의하십시오.

## 클러스터링하기 전 실행 실패

소프트웨어에서 클러스터링을 시작하기 전에 실행에 실패할 경우 새 실행을 위해 시약 카트리지와 라이브러리 튜브를 저장할 수 있습니다. 클러스터링이 시작되면 Sipper가 알루미늄 포장지에 구멍을 뚫기 때문에 다른 실행에 시약과 라이브러리를 사용할 수 없습니다.

실패한 실행으로부터 저장한 시약 카트리지와 라이브러리 튜브를 사용하여 새 실행을 설정하는 방법에는 2가지가 있습니다.

- ▶ **새 실행을 즉시 설정**—실행 실패 후 4시간 이내에 새 실행을 설정합니다. 시약 카트리지와 라이브러리 튜브는 그대로 장착되어 있습니다.
- ▶ **Set up a new run later(나중에 새 실행 설정)**—실행 실패 후 3주 이내에 새 실행을 설정합니다. 시약 카트리지와 라이브러리 튜브는 기기에서 분리되어 보관됩니다. 카트리지와 라이브러리 및 플로우 셀은 날짜로 라벨이 지정되고 원래 조건에서 보관되어야 합니다.

## 새 실행을 즉시 설정

- 1 실행에 실패한 경우 Home(홈)을 선택합니다.



참고

실행에 실패하면 기술 지원 부서에 연락하여 교체용 플로우 셀을 받습니다.

- 2 새 실행을 설정합니다.
- 3 메시지가 표시되면 새 플로우 셀을 장착합니다.
- 4 시약 냉각기 도어 및 완충제 서랍을 열었다가 닫아서 제어 소프트웨어가 시약 카트리지의 RFID를 다시 읽도록 합니다.  
카트리지와 라이브러리 튜브는 실행 실패 후 최대 4시간까지 기기에 그대로 둘 수 있습니다.
- 5 사용한 시약 병을 비우고 빈 시약 병을 기기에 다시 장착합니다.
- 6 실행 설정을 진행합니다.

## 나중에 새 실행 설정

- 1 실행에 실패한 경우 Home(홈)을 선택합니다.
- 2 새 실행이나 관리 세척을 설정하여 기기에서 소모품을 해제합니다.
- 3 메시지가 표시되면 다음과 같이 소모품을 제거하여 보관합니다.
  - ▶ 라이브러리 튜브의 캡을 닫아 -25°C~-15°C에서 최대 3주 동안 보관합니다.
  - ▶ SBS 및 클러스터 카트리지를 -25°C~-15°C 보관소에 다시 넣어 둡니다.
  - ▶ 완충제 카트리지를 빛이 차단되는 실온 보관소에 다시 넣어 둡니다.
- 4 End(종료)를 선택하여 실행이나 관리 세척을 취소한 다음 Yes(예)를 선택하여 명령을 확인합니다.

## 실행 종료

NovaSeq 6000 시스템에서 실행 종료는 **최종** 조치입니다. 소프트웨어는 실행을 다시 시작하거나 시퀀싱 데이터를 저장할 수 없으며 소모품은 재사용할 수 없습니다.

- 1 End(종료)를 선택한 다음 Yes(예)를 선택하여 명령을 확인합니다.  
실행이 리드 1 이후에 종료되면 소프트웨어에서 자동 실행 후 세척을 시작합니다.
- 2 메시지가 표시되면 다음 세척 옵션 중에서 선택합니다.
  - ▶ End Run Without Wash(세척 없이 실행 종료)—실행을 종료하고 관리 세척을 시작합니다.
  - ▶ End Run and Wash(실행 종료 후 세척)—실행을 종료하고 자동 실행 후 세척을 수행합니다.
  - ▶ Cancel(취소)—현재 실행을 계속합니다.

클러스터링 완료와 리드 1 완료 사이에 실행이 종료된 경우 세척 옵션이 표시됩니다. 그렇지 않으면, 소프트웨어에서 자동 실행 후 세척을 시작합니다.

- 3 End Run Without Wash(세척 없이 실행 종료)를 선택한 경우 소프트웨어에 나타나는 메시지에 따라 관리 세척을 설정합니다.

## 기기 종료

기기를 종료하면 모든 소프트웨어와 시스템이 안전하게 종료되고 기기의 전원이 꺼집니다. 상태 표시줄이 녹색에서 흰색으로 희미해지면 종료가 진행 중이라는 뜻입니다.

정상적인 상태에서는 기기 종료가 필요하지 않습니다.

- 1 Main Menu(메인 메뉴)에서 Shutdown Instrument(기기 종료)를 선택합니다.
- 2 기기 뒤쪽에 있는 전원 스위치를 끄기 위치로 전환합니다.
- 3 60초 이상 기다렸다가 기기를 다시 켵니다.



### 주의

기기를 재배치하지 마십시오. 잘못 이동하면 광학 배열에 영향을 미치고 데이터 무결성이 손상될 수 있습니다. 재배치에 도움이 필요한 경우 Illumina 담당자에게 문의하십시오.

# 부록 B 실시간 분석

실시간 분석 개요 ..... 43  
실시간 분석 작업흐름 ..... 45

## 실시간 분석 개요

NovaSeq 6000 시퀀싱 시스템은 기기 CE(계산 엔진)에서 RTA3라는 실시간 분석 소프트웨어 구현을 실행합니다. RTA3는 카메라로부터 수신한 이미지에서 인텐시티를 추출하고 base calls를 수행하며 base calls에 quality score(Q-점수)를 지정합니다. 또한 PhiX에 대해 배열하고 시퀀싱 분석 뷰어에서 볼 수 있도록 InterOp 파일에 있는 데이터를 보고합니다.

RTA3는 처리 시간을 최적화하기 위해 정보를 메모리에 저장합니다. RTA3가 종료되면 처리가 다시 시작되지 않고 메모리에서 처리되고 있는 실행 데이터가 손실됩니다.

## RTA3 입력

RTA3에서는 로컬 시스템 메모리에 포함된 타일 이미지를 처리해야 합니다. RTA3는 제어 소프트웨어에서 실행 정보 및 명령을 수신합니다.

## RTA3 아웃풋

각 색상 채널에 대한 이미지가 메모리에서 RTA3에 타일로 전달됩니다. 이러한 이미지에서 RTA3는 Q-점수가 매겨진 base calls 파일과 필터 파일 세트를 아웃풋합니다. 다른 모든 아웃풋은 아웃풋 파일을 지원합니다.

파일 유형	설명
base calls 파일	분석된 각 타일은 연결된 base calls(*.cbcl) 파일에 포함되어 있습니다. 동일한 레인 및 표면에 있는 타일은 각 레인 및 표면에 대해 1개의 *.cbcl 파일에 집계됩니다.
필터 파일	각 타일은 클러스터가 필터를 통과했는지 여부를 지정하는 필터 파일(*.filter)을 생성합니다.
클러스터 위치 파일	클러스터 위치(*.locs) 파일에는 타일의 모든 클러스터에 대한 X, Y 좌표가 포함됩니다. 각 실행에 대해 클러스터 위치 파일이 생성됩니다.

아웃풋 파일은 BaseSpace 시퀀싱 허브에서 다운스트림을 분석하는 데 사용됩니다. 또는 FASTQ 변환용 bcl2fastq 변환 소프트웨어와 타사 분석 솔루션을 사용할 수 있습니다. NovaSeq 파일에는 bcl2fastq2 변환 소프트웨어 v2.19 이상이 필요합니다. 최신 버전의 fastq2를 다운로드하려면 Illumina 웹사이트에서 [NovaSeq 6000 시퀀싱 시스템 다운로드 페이지](#)를 방문하십시오.

RTA3는 InterOp 파일(타일, 주기 및 리드 수준 메트릭을 포함하는 이진 아웃풋)로 저장된 실행 품질의 실시간 메트릭을 제공합니다. 시퀀싱 분석 뷰어를 사용하여 실시간 메트릭을 보려면 InterOp 파일이 필요합니다. 최신 버전의 시퀀싱 분석 뷰어를 다운로드하려면 Illumina 웹사이트에서 [시퀀싱 분석 뷰어 다운로드 페이지](#)를 방문하십시오.

## 오류 처리

RTA3는 로그 파일을 생성하여 이를 Logs(로그) 폴더에 기록합니다. 오류는 \*.log 파일 형식의 텍스트 파일에 기록됩니다.

처리 종료 시 다음과 같은 로그 파일이 최종 아웃풋 대상 위치로 전송됩니다.

- ▶ info\_00000.log는 중요한 실행 이벤트를 요약합니다.
- ▶ error\_00000.log는 실행 중에 발생한 오류를 열거합니다.
- ▶ warning\_00000.log는 실행 중에 발생한 경고를 열거합니다.



## 플로우 셀 타일

타일은 플로우 셀의 작은 이미지 생성 구역입니다. 카메라에서 각 스왈스 이미지를 한 장 촬영하면 소프트웨어에서 RTA3 처리를 위해 타일로 분할합니다. 총 타일 수는 플로우 셀에서 레인, 스왈스 및 표면 이미지가 생성되는 양에 따라 다릅니다.

- ▶ S1 플로우 셀은 총 타일 수가 624개입니다.
- ▶ S2 플로우 셀은 총 타일 수가 1408개입니다.
- ▶ S4 플로우 셀은 총 타일 수가 3744개입니다.

표 10 플로우 셀 타일

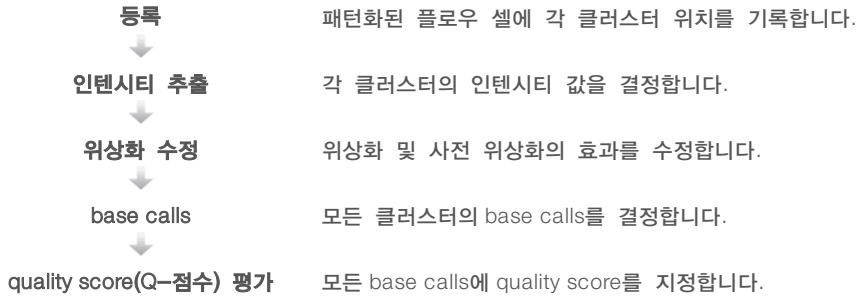
플로우 셀 부분	S1	S2	S4	설명
레인	2	2	4	레인은 주입구 포트와 배출구 포트가 있는 물리적 채널입니다.
표면	2	2	2	플로우 셀은 상단과 하단의 두 표면에서 이미지가 생성됩니다. 타일의 상단 표면에서 먼저 이미지가 생성됩니다.
레인당 스왈스(swath)	2	4	6	스왈스는 카메라에서 하나의 이미지로 포착되는 플로우 셀 레인의 열입니다.
스왈스당 타일	78	88	78	타일은 스왈스의 일부이며 플로우 셀에서 이미지가 생성된 영역을 나타냅니다.
생성된 총 타일 수	624	1408	3744	스왈스당 레인 × 표면 × 스왈스 × 타일은 총 타일 수와 같습니다.

## 타일 이름 지정

타일 이름은 플로우 셀에서의 타일 위치를 나타내는 5자리 숫자입니다. 예를 들어, 타일 이름 1\_1205는 레인 1, 상단 표면, 스왈스 2, 타일 5를 나타냅니다.

- ▶ 첫 번째 숫자는 레인 번호입니다.
  - ▶ S1 또는 S2 플로우 셀의 경우 1 또는 2입니다.
  - ▶ S4 플로우 셀의 경우 1, 2, 3 또는 4입니다.
- ▶ 두 번째 숫자는 표면을 나타냅니다(1은 상단, 2는 하단).
- ▶ 세 번째 숫자는 스왈스 번호를 나타냅니다.
  - ▶ S1 플로우 셀의 경우 1 또는 2입니다.
  - ▶ S2 플로우 셀의 경우 1, 2, 3 또는 4입니다.
  - ▶ S4 플로우 셀의 경우 1, 2, 3, 4, 5 또는 6입니다.
- ▶ 마지막 두 자리는 타일 번호를 나타냅니다. 타일 번호 매기기는 플로우 셀의 배출구 끝에서 01로 시작하여 주입구 끝으로 88 또는 78까지 이어집니다.
  - ▶ S1 또는 S4 플로우 셀의 경우 01에서 78입니다.
  - ▶ S2 플로우 셀의 경우 01에서 88입니다.

## 실시간 분석 작업흐름



### 등록

등록하면 패턴화된 플로우 셀에 있는 6각형의 나노 웰 배열에 이미지를 배열합니다. 나노 웰의 정렬된 배열 때문에 타일에 있는 각 클러스터의 X 및 Y 좌표가 미리 결정됩니다. 클러스터 위치는 각 실행에 대한 하나의 클러스터 위치(s.locs) 파일에 기록됩니다.

주기 내 이미지 등록에 실패할 경우 그 주기의 해당 타일에 대한 Base Calls가 생성되지 않습니다. 시퀀싱 분석 뷰어를 사용하여 등록에 실패한 이미지를 확인합니다.

### 인텐시티 추출

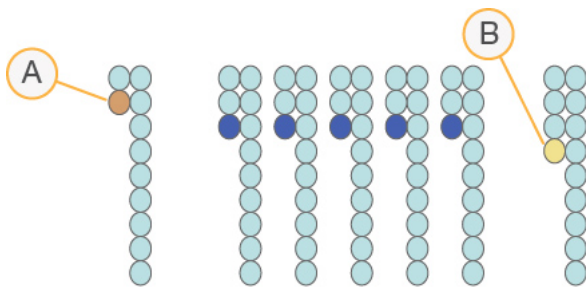
등록 후 인텐시티 추출에서 지정된 이미지에 있는 각 나노 웰의 인텐시티 값을 계산합니다. 등록에 실패한 경우 해당 타일의 인텐시티를 추출할 수 없습니다.

### 위상화 수정

시퀀싱 반응 중 클러스터의 각 DNA 스트랜드가 주기당 한 염기씩 늘어납니다. 가닥이 현재 결합 주기 단계를 벗어나게 되면 위상화 및 사전 위상화가 발생합니다.

- ▶ 염기가 뒤로 처질 때 위상화가 일어납니다.
- ▶ 염기가 앞서 나갈 때 사전 위상화가 일어납니다.

그림 22 위상화 및 사전 위상화



- A 위상화 중인 염기가 있는 리드
- B 사전 위상화 중인 염기가 있는 리드

RTA3에서는 위상화 및 사전 위상화의 효과를 수정함으로써 전체 실행 과정의 모든 주기에서 데이터 품질을 극대화합니다.

## base calls

base calls에 따라 특정 주기에서 지정된 타일의 모든 클러스터에 대한 염기(A, C, G, T)가 결정됩니다. NovaSeq 6000 시퀀싱 시스템에서는 두 가지 이미지(빨간색 채널에서 1개, 녹색 채널에서 1개)만으로 네 가지 DNA 염기에 대한 데이터를 인코딩하는 2채널 시퀀싱을 사용합니다.

No-Call은 N으로 식별됩니다. No-Call은 클러스터가 필터를 통과하지 않고 등록에 실패하거나 클러스터가 이미지에서 벗어난 경우 발생합니다.

빨간색 및 녹색 이미지에서 각 클러스터에 대한 인텐시티가 추출되어 서로 비교된 후 4개의 고유한 모집단이 생성되며, 각 모집단은 염기에 해당합니다. base calls 과정에서는 각 클러스터가 속한 모집단을 결정합니다.

그림 23 클러스터 인텐시티 시각화

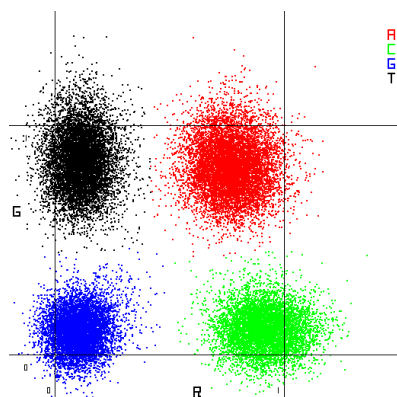


표 11 2채널 시퀀싱의 base calls

염기	빨간색 채널	녹색 채널	결과
A	1(켜짐)	1(켜짐)	빨간색 채널과 녹색 채널에 모두 인텐시티가 표시된 클러스터입니다.
C	1(켜짐)	0(꺼짐)	빨간색 채널에만 인텐시티가 표시된 클러스터입니다.
G	0(꺼짐)	0(꺼짐)	알려진 클러스터 위치에 표시된 인텐시티가 없는 클러스터입니다.
T	0(꺼짐)	1(켜짐)	녹색 채널에만 인텐시티가 표시된 클러스터입니다.

## 필터 통과 클러스터

실행 중에 RTA 3는 원시 데이터를 필터링하여 데이터 품질 임계값을 충족하지 않는 리드를 제거합니다. 중첩되고 품질이 낮은 클러스터가 제거됩니다.

2채널 분석의 경우 RTA3는 모집단 기반 시스템을 사용하여 base calls의 chastity(인텐시티 순도 측정)를 결정합니다. 처음 25주기에 chastity가 고정 임계값 미만인 base calls가 1개 이하인 경우 클러스터가 필터를 통과(PF)합니다. PhiX 배열은 필터를 통과한 클러스터의 타일 하위 집합에서 26주기에 수행됩니다. 필터를 통과하지 않는 클러스터는 base calls 및 배열되지 않습니다.

## Quality Score(Q-점수)

Quality score(Q-점수)는 잘못된 base calls 가능성에 대한 예측값입니다. Q-점수가 높을수록 base calls의 품질이 더 높고 base calls가 정확할 확률이 더 높습니다. Q-점수가 결정되면 base calls(\*.cbcl) 파일에 결과가 기록됩니다.

Q-점수는 사소한 오류 가능성을 간단하게 전달합니다. quality score는 Q(X)로 나타내며, 여기서 X가 점수입니다. 다음 표에는 quality score와 오류 가능성 간의 관계가 나와 있습니다.

Q-점수 Q(X)	오류 가능성
Q40	0.0001(1/10,000)
Q30	0.001(1/1000)
Q20	0.01(1/100)
Q10	0.1(1/10)

## Quality Score(Q-점수) 평가 및 보고

quality score 평가에서는 각 base calls에 대한 예측값 세트를 계산한 다음, 예측값을 사용하여 품질 표에서 Q-점수를 조회합니다. 품질 표는 시퀀싱 플랫폼 및 화학 반응 버전의 특정 구성에 따라 생성되는 실행에 대해 가장 정확한 품질 예측을 제공하도록 만들어졌습니다.



### 참고

quality score는 수정된 버전의 Phred 알고리즘을 기초로 평가됩니다.

RTA는 base calls의 신뢰도를 기반으로 3개의 Q-점수 중 하나를 각 base call에 지정합니다. 이 Q-점수 보고 모델은 정확도나 성능에 영향을 주지 않고 보관 공간 및 대역폭 요건을 감소시킵니다.

Quality Score(Q-점수) 평가 대한 자세한 내용은 *NovaSeq 시리즈 및 HiSeq X Ten 데이터 품질 비교(발행 번호 770-2017-010)*를 참조하십시오.

# 부록 C 아웃풋 폴더 및 파일

시퀀싱 아웃풋 폴더 구조 ..... 48  
 시퀀싱 아웃풋 파일 ..... 48

## 시퀀싱 아웃풋 폴더 구조

제어 소프트웨어가 아웃풋 폴더 이름을 자동으로 생성합니다.

- 📁 Config(구성) - 실행에 대한 구성 설정입니다.
- 📁 Logs(로그) - 작업 단계, 기기 분석 및 RTA3 이벤트를 설명하는 로그 파일입니다.
- 📁 Data(데이터)
  - 📁 인텐시티(Intensities)
    - 📁 BaseCalls
      - 📁 L00[X] - 레인, 표면 및 주기당 1개의 파일에 집계된 Base calls 파일(\*.cbcl)입니다.
        - 📄 s.locs - 실행을 위한 클러스터 위치 파일입니다.
- 📁 InterOp - 시퀀싱 분석 뷰어에서 사용되는 이진 파일입니다.
- 📁 Recipe(레시피) - 실행별 레시피 파일입니다.
- 📁 Thumbnail Images(섬네일 이미지) - 섬네일 이미지는 10번째 타일마다 있습니다.
- 📁 LIMS - 실행 설정 파일(\*.json)입니다(해당하는 경우).
  - 📄 RTA3.cfg
  - 📄 RunInfo.xml
  - 📄 RunParameters.xml
  - 📄 RTAComplete.txt
  - 📄 CopyComplete.txt
  - 📄 Samplesheet.csv - 샘플 시트 또는 기타 첨부된 파일입니다(해당하는 경우).
  - 📄 SequenceComplete.txt

## 시퀀싱 아웃풋 파일

파일 유형	파일 설명, 위치 및 이름
Base Calls 파일	분석된 각 클러스터는 레인, 표면 및 주기당 하나의 파일로 집계되는 base calls 파일에 포함됩니다. 집계된 파일에는 모든 클러스터에 대한 base calls와 인코딩된 quality score가 포함됩니다. base calls 파일은 BaseSpace 시퀀스 허브 또는 bcl2fastq2에서 사용됩니다. Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 L[lane]_[surface].cbcl, for example L001_1.cbcl
클러스터 위치 파일	각 플로우 셀에서 이진 클러스터 위치 파일에는 한 타일에 있는 클러스터의 XY 좌표가 포함되어 있습니다. 플로우 셀의 나노 웰 레이아웃과 일치하는 6각형 레이아웃이 좌표를 사전 정의합니다. Data\Intensities s_[lane].locs

파일 유형	파일 설명, 위치 및 이름
필터 파일	필터 파일은 클러스터가 필터를 통과했는지 여부를 지정합니다. 필터 파일은 데이터의 25개 주기를 사용하여 26주기에 생성됩니다. 각 타일에서 1개의 필터 파일이 생성됩니다. <a href="#">Data\Intensities\BaseCalls\L001</a> s_[lane]_[tile].filter
InterOp 파일	시퀀싱 분석 뷰어에 사용되는 이진 보고 파일입니다. InterOp 파일은 실행 과정에 걸쳐 업데이트됩니다. <a href="#">InterOp</a> 폴더
실행 정보 파일	실행 이름, 각 리드의 주기 수, 리드가 인덱스 리드인지 여부, 플로우 셀의 스와스(swath) 및 타일 수가 나와 있습니다. 실행 정보 파일은 실행을 시작할 때 만들어집니다. <a href="#">[루트 폴더]</a> , RunInfo.xml
섬네일 파일	활성화되면 섬네일 이미지는 각 색상 채널(빨간색과 녹색)에서 10 <sup>번째</sup> 타일마다 있습니다. <a href="#">Thumbnail_Images\L001\C[X.1]</a> - 각 주기의 하위 폴더에 저장된 파일입니다. s_[lane]_[tile]_[channel].jpg - 섬네일 이미지는 타일 번호가 있습니다.

# 부록 D Windows 보안

- 보안 구성 ..... 50
- 암호 요건 ..... 50
- Windows 방화벽 ..... 50
- Enhanced Mitigation Experience Toolkit ..... 50
- Windows 소프트웨어 제한 정책 ..... 51

## 보안 구성

기기 제어 컴퓨터를 실행하는 Windows 운영 체제에는 불필요한 소프트웨어의 실행을 방지하는 보안 구성이 포함되어 있습니다. 이 부록의 정보는 이러한 구성을 설명하고 사용자 요구에 맞게 구성을 사용자 지정하는 방법을 보여 줍니다.

정상적인 상황에서는 기본 보안 구성을 변경할 필요가 없습니다. 구성을 변경해야 하는 경우 신중한 계획 후 숙련된 관리자가 변경을 관리해야 합니다.



### 주의

이러한 구성은 시스템 성능에 영향을 주고 보안을 손상시킬 수 있으므로 설정을 편집해야 하는지 불분명하거나 영향을 알 수 없는 경우 Illumina 기술 지원 부서에 문의하십시오.

## 암호 요건

다음 표에는 제어 컴퓨터에 필요한 암호 정책이 나와 있습니다. 처음 로그인하면 암호를 변경하라는 메시지가 표시됩니다.

표 12 기본 암호 정책

정책	보안 설정
최근 암호 기억	5개 암호 기억됨
최대 암호 사용 기간	180일
최소 암호 사용 기간	0일
최소 암호 길이	10자
암호는 복잡성 조건을 만족해야 함	비활성화됨
해독 가능한 암호화를 사용하여 암호 저장	비활성화됨

## Windows 방화벽

Windows 방화벽은 들어오는 트래픽을 필터링하여 잠재적 위협을 제거하는 방식으로 제어 컴퓨터를 보호합니다. 방화벽은 모든 인바운드 연결을 차단하도록 기본적으로 사용됩니다. 방화벽을 사용되는 상태로 유지하고 아웃바운드 연결을 허용하십시오. 아웃바운드 연결에 대한 자세한 내용은 *NovaSeq 시리즈 현장 준비 안내서(문서 번호 1000000019360)*를 참조하십시오.

## Enhanced Mitigation Experience Toolkit

EMET(Enhanced Mitigation Experience Toolkit)는 소프트웨어 취약점 악용을 방지하며 인증서 신뢰 기능을 제공합니다. 이 기능은 악성 인증서를 사용하는 공격을 탐지하고 중지합니다.

## Windows 소프트웨어 제한 정책

Windows 소프트웨어 제한 정책에서는 지정된 소프트웨어의 실행만 허용하는 규칙을 사용합니다. NovaSeq 6000의 경우 소프트웨어 제한 정책 규칙은 파일 확장명, 파일 이름, 인증서 또는 디렉토리를 기반으로 할 수 있습니다.

소프트웨어 제한 정책은 불필요한 소프트웨어가 제어 컴퓨터에서 실행되는 것을 방지하기 위해 기본적으로 사용됩니다. 이러한 규칙을 추가 및 제거하여 보안 수준을 사용자 지정할 수 있습니다. 특정한 상황에서는 소프트웨어 제한 정책을 사용하지 않도록 설정할 수 있습니다.



### 주의

소프트웨어 제한 정책을 해제하면 정책에서 제공되는 보호가 차단됩니다. 규칙을 변경하면 기본 보호가 재정의됩니다.

소프트웨어 제한 정책은 기본적으로 다음 규칙을 허용합니다.

파일 이름	인증서
Portmon.exe	DigitalSystems
Procmon.exe	Illumina, Inc.
Procmon64.exe	
Tcpview.exe	
파일 확장명	디렉토리
*.bin	%HKEY_LOCAL_MACHINE\SOFTWARE\Microsoft\Windows\CurrentVersion\ProgramFilesDir%
*.cbcl	%HKEY_LOCAL_MACHINE\SOFTWARE\Microsoft\Windows NT\CurrentVersion\SystemRoot%
*.cfg	C:\CrashDumps*
*.config	C:\Illumina*
*.csv	C:\Illumina Maintenance Logs*
*.dat	C:\LocalSymbols*
*.focus	C:\Program Files (x86)\Chromium\Application\*
*.imf1	C:\Program Files (x86)\EMET 5.5\*
*.ims	C:\Program Files (x86)\Illumina\*
*.jpg	C:\Program Files (x86)\Internet Explorer\*
*.json	C:\Program Files (x86)\LibreOffice 5\*
*.lnk	C:\Program Files\Illumina\*
*.locs	C:\ProgramData\Illumina\*
*.log	C:\ProgramData\Package Cache\*
*.manifest	C:\Users\sbsuser\AppData\Local\Temp\Citrix\*
*.sdf	C:\Users\sbsuser\AppData\Local\Temp\CitrixLogs\*
*.tif	C:\Users\sbsuser\Desktop\FSE turn over to customer.bat
*.txt	D:\Illumina\*
*.xml	

## 규칙 추가

- 1 Start(시작)를 선택한 다음 Run(실행)을 선택합니다.
- 2 secpol을 입력하여 Local Security Policy(로컬 보안 정책)를 엽니다.
- 3 Software Restriction Policies(소프트웨어 제한 정책)를 선택합니다.
- 4 Additional Rules(추가 규칙)를 마우스 오른쪽 버튼으로 클릭하고 New Path Rule(새 경로 규칙)을 선택합니다.
- 5 Path(경로) 필드에 허용할 디렉토리 또는 파일 확장명을 입력합니다.
- 6 [선택사항] Description(설명) 필드에 규칙을 만드는 이유를 입력합니다.
- 7 Security level(보안 수준) 목록에서 Unrestricted(제한 없음)를 선택합니다.



8 OK(**확인**)를 선택하여 소프트웨어 제한 정책에 규칙을 추가합니다.

## 규칙 제거

- 1 Start(**시작**)를 선택한 다음 Run(**실행**)을 선택합니다.
- 2 secpol을 입력하여 Local Security Policy(**로컬 보안 정책**)를 엽니다.
- 3 Software Restriction Policies(**소프트웨어 제한 정책**)를 선택합니다.
- 4 Additional Rules(**추가 규칙**)를 선택합니다.
- 5 삭제할 규칙을 마우스 오른쪽 버튼으로 클릭하고 Delete(**삭제**)를 선택합니다.
- 6 Yes(**예**)를 선택하여 삭제를 확인하고 소프트웨어 제한 정책에서 실행을 제거합니다.

## 소프트웨어 제한 정책 설정/해제

지원 및 사용자 지정 목적으로만 소프트웨어 제한 정책을 해제하십시오. 예를 들어 시스템에서 사용자 지정 보안을 설정하거나 일회성 설치를 수행하는 경우가 여기에 해당됩니다.

- 1 C:\Windows\Security 디렉토리로 이동합니다.
- 2 적절한 파일을 두 번 클릭합니다.
  - ▶ 소프트웨어 제한 정책을 설정하려면 Enable.reg를 두 번 클릭합니다.
  - ▶ 소프트웨어 제한 정책을 해제하려면 Disable.reg를 두 번 클릭합니다.

# 인덱스

## %

%PF 20

## 2

2채널 시퀀싱, 빨간색 채널, 녹색 채널, 뉴클레오티드, No-Call 46  
2채널 시퀀싱, 이미지 생성, 타일, 스와스, 스캐닝 2

## B

BaseSpace Enterprise, 도메인, BaseSpace 시퀀스 허브, 호스팅 위치, 샘플 시트, 기본 설정 17  
BaseSpace 시퀀스 허브 17  
연결 및 분리 29  
bcl2fastq2 17  
bcl2fastq2, FASTQ 변환, base calls 파일, 필터 파일, 클러스터 위치, 실행 메트릭, InterOp 파일, 시퀀싱 분석 뷰어 43

## C

CBCL 파일, 분석 방법, BaseSpace 시퀀스 허브, 지원 2  
CE 7  
CE, 계산 엔진, 이미지 생성, PhiX, 배열 43

## E

EMET 50  
ExAmp 시약, 클러스터 카트리지 10

## F

FASTQ 변환 17

## P

PhiX  
주입 22  
Phred 알고리즘 47  
Plexity, 정규화 21

## Q

Q-점수 31, 47  
Q-점수, CBCL 파일, 오류, 가능성 46

## R

RFID 10  
RFID, 자동 검사, 센서, 실행 전 검사, 배열 실패, 디스크 공간, 센서, 시스템 연결 상태 39  
RunInfo.xml, InterOp 파일, 파일, 실행별, 로그 파일, 오류 39

## S

Sipper 위치, 소모품, 분리 37  
Sipper 위치, 실행 후 활동, 세척, 시간, 소모품, 분리, 교차 오염, 차아염소산나트륨, NaOCl 33  
SRP 51

## 경

경고등, 상태 표시줄, 광학, 구성요소, USB 포트 4

## 계

계산 엔진 7

## 고

고객 지원 58

## 관

관리 세척, 세척액, 세척 카트리지, 차아염소산나트륨, 트윈 20, NaOCl, 플루이딕 시스템 34  
관리, 예방 34

## 그

그래프 색상 31

## 기

기술 지원 58

## 냉

냉각기, 시약 냉각기, 사용한 시약 5  
냉동고 사양, 냉장고 사양, 피펫 19

## 넘

넘침, 누수, 액체함, 플루이딕 문제 40  
넘침, 사용한 시약 28

## 단

단일 리드 런, 인덱스 리드, 주기 수, 사용자 지정 프  
라이머, 샘플 시트 30  
단일 실행 설정 25

## 데

데이터 저장 29  
데이터 전송 7  
데이터 전송, 계산 엔진, 하드 드라이브, 시퀀싱 실  
행, 삭제 32

## 도

도움말  
설명서 2  
도움말, 기술 58  
도움말, 지원 페이지, 지원 게시판, 웹사이트, 지  
원 39

## 디

디스크 공간 7

## 라

라이브러리  
정량화 20  
품질 관리 20  
라이브러리 튜브  
보관 10  
카트리지 내 보관 41

라이브러리 튜브 저장, 라이브러리, 저장, 라이브러  
리 튜브, 보관 41  
라이브러리 튜브, 시약 카트리지, 보관, 시약 카트리  
지 보관 40  
라이브러리 튜브, 저장, 라이브러리 희석, 라이브러  
리, 희석, 라이브러리, 저장, 라이브러리 저  
장 23

## 로

로그 파일, 오류 로그 43

## 리

리드 1 41  
리드 길이, 위상화 및 사전 위상화, 주기 수 25

## 모

모드, 리드, 수, 라벨, 키트 컴포넌트, 시약 카트리  
지, 라벨 지정, 플로우 셀, 라벨 지정, 사양,  
플로우 셀, 사양 9

## 방

방화벽 50

## 백

백서 47

## 범

범용 복사 서비스, 프로세스 관리, CBCL 파일 31

## 변

변성 시약, 희석액, 차아염소산나트륨, 희석, 차아염  
소산나트륨 희석 22

## 보

보안 디렉토리 52  
보안 설정 50

## 분

분석 17

## 사

사용자 지정 프라이머 2  
사용자 지정 프라이머, 라이브러리 튜브, 샘플 추적 13

## 삽

삽입 크기 22

## 샘

샘플 시트 29  
샘플 시트 형식 17

## 설

설명서 2, 58  
설정, 보안 50

## 섬

섬네일, RunInfo.xml, base calls 파일, 필터 파일, 클러스터 위치, InterOp 파일 48

## 세

세척 카트리지, 완충제 카트리지, 위치 30번 36  
세척, 시간, 세척, 빈도, 소모품, 관리 세척, 세척 플로우 셀, 세척 카트리지, 관리 세척, 소모품 34  
세척액 12

## 센

센서 36

## 소

소모품  
일반 실험실용 순수 19  
소프트웨어 제품군, 제어 소프트웨어, 실시간 분석, InterOp 파일, 범용 복사 서비스 6  
소프트웨어 제한 정책  
규칙 제거 52  
규칙 추가 51

## 수

수율 31  
수조 20

## 시

시간  
관리 세척 34  
시퀀싱 실행 31  
자동 실행 후 세척 33  
클러스터 생성 31  
시약 카트리지  
라벨 지정 12  
보관 10  
준비 20  
시약 카트리지, 분리, 시약 카트리지 분리, 사용한 시약 27  
시약 키트 보관 10  
시퀀싱 단계 2  
시퀀싱 분석 뷰어, 등록 실패, No-Call, 템플레이트 생성 45  
시퀀싱 소모품, 관리 세척, 소모품, 공급업체, 소모품, 변성 및 희석, PhiX, 카탈로그 번호, 카탈로그 번호, 사용자 공급 소모품 18  
시퀀싱 화면 31

## 실

실행  
교차 25  
교차 실행 37  
다시 시작 41  
메트릭 31  
모니터링 17, 29  
범용 복사 서비스 삭제 7  
일시 중지 37  
실행 다시 시작 41  
실행 매개변수, LIMS 15  
실행 모드, LIMS, 실행 설정, 분석 설정 14  
실행 설정 폴더 14-15  
실행 시간 31  
실행 일시 중지 37  
실행 전 검사 오류, 오류, 실행 전 검사, 플로우 셀 다시 장착, 배열 실패 30

## 아

아웃바운드 연결 50

아웃풋 폴더 14  
아웃풋 폴더 이름 48  
아이콘 7  
아이콘 깜박임, 아이콘, 깜박임, 경고, 오류 6

## 압

암호 정책 50

## 액

액체 부분 12

## 예

예방 관리 34

## 오

오류  
가능성 47

## 온

온라인 교육 2

## 와

와이어 랙 20

## 완

완충제 부분, 완충제 카트리지 27

## 운

운영 체제 50  
운영 체제, 초기화, 전원, 켜기 14

## 위

위상화 및 사전 위상화 45  
위치 30번, 포름아마이드 폐기, 소모품, 분리 32

## 이

이미지, 타일 43  
이중 실행 설정 25

## 인

인덱스 리드 25  
인바운드 연결 50  
인증서 신뢰 50  
인텐시티 값, 클러스터 인텐시티, 나노 웰 45

## 일

일반 실험실용 순수 지침 19

## 장

장갑, 변경 28, 36  
장착 농도 20

## 재

재혼성화 15

## 전

전원 차단, 종료 후 다시 시작, 기기 재배치, 기기 이동, 상태 표시줄, 경고등 42

## 정

정량화 20

## 제

제어 컴퓨터 50

## 주

주입, PhiX 22

## 증

증폭, ExAmp 마스터 믹스, 장착 농도, 장착 볼륨 2

## 카

카메라, 스와스, 레인, 이미지 생성 44  
카메라, 패턴화된 플로우 셀, 애플리케이션, LIMS, 실시간 분석, BaseSpace 시퀀스 허브 1  
카탈로그 번호, 키트 구성 9

## 캡

캡 홀더 28

## 클

클러스터링 시간, 시퀀싱 주기, 주기 수 31

## 키

키트 컴포넌트 19

## 타

타사 LIMS 15  
타일 번호 매기기, 스와스, 표면 번호 매기기 44  
타일, 스와스, 레인, 이미지 생성, 패턴화된 플로우 셀, 2레인 플로우 셀, 4레인 플로우 셀, 개스킷 10

## 포

포름아마이드 폐기, 카트리지가 채우기, 카트리지가 채우기 12

## 플

플링 계산기, 계산기, 플링, 도움말, 라이브러리 플링, 라이브러리 플링 21

## 품

품질 관리 20  
품질 표 47

## 플

플로우 셀  
보관 10, 25  
플로우 셀 대, 클램프, 플로우 셀, 센서, 광학 배열 대상, 진단, 카메라 4  
플로우 셀 대, 플로우 셀 홀더, 광학 배열 대상, 플로우 셀  
세척, 개스킷, 독, 플로우 셀 스크래치, 스크래치, 플로우 셀 26  
플로우 셀 도어 25  
플루이딕 시스템, 사용한 시약 폐기, 안전보건자료, 유해 화학물, 교차 오염 5

## 필

필터 통과 클러스터 20, 31  
필터 통과(PF), %PF, chastity 필터, 데이터 품질, 클러스터 필터링 46

## 하

하드 드라이브 7  
하드 드라이브, 기기 성능 데이터, 상태 데이터, 아웃풋 폴더, 실행 설정 폴더, LIMS 설정 15  
하드 드라이브, 기본 설정, 기기 성능 데이터, 상태 데이터, 아웃풋 폴더 15

## 해

해동용 랙 20

## 허

허용 목록 51

## 현

현장 준비 2, 50

# 기술 지원

기술 지원을 받으려면 Illumina 기술 지원 부서에 문의하십시오.

웹사이트: [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
이메일: [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

## Illumina 고객 지원 센터 전화 번호

지역	무료 통화	지역
북미	+1.800.809.4566	
호주	+1.800.775.688	
오스트리아	+43 800006249	+43 19286540
벨기에	+32 80077160	+32 34002973
중국	400.635.9898	
덴마크	+45 80820183	+45 89871156
핀란드	+358 800918363	+358 974790110
프랑스	+33 805102193	+33 170770446
독일	+49 8001014940	+49 8938035677
홍콩	800960230	
아일랜드	+353 1800936608	+353 016950506
이탈리아	+39 800985513	+39 236003759
일본	0800.111.5011	
네덜란드	+31 8000222493	+31 207132960
뉴질랜드	0800.451.650	
노르웨이	+47 800 16836	+47 21939693
싱가포르	+1.800.579.2745	
스페인	+34 911899417	+34 800300143
스웨덴	+46 850619671	+46 200883979
스위스	+41 565800000	+41 800200442
대만	00806651752	
영국	+44 8000126019	+44 2073057197
기타 국가	+44.1799.534000	

SDS(안전보건자료) – Illumina 웹사이트([support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html))에서 확인할 수 있습니다.

제품 설명서 – Illumina 웹사이트에서 PDF로 다운로드할 수 있습니다. [support.illumina.com](http://support.illumina.com)에서 제품을 선택한 다음, Documentation & Literature(설명서 및 문헌)를 선택하십시오.



Illumina

5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 U.S.A.  
+1.800.809.ILMN(4566)  
+1.858.202.4566(북미 이외 지역)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com

연구 전용입니다. 진단 절차에는 사용할 수 없습니다.

© 2017 Illumina, Inc. All rights reserved.

illumina®