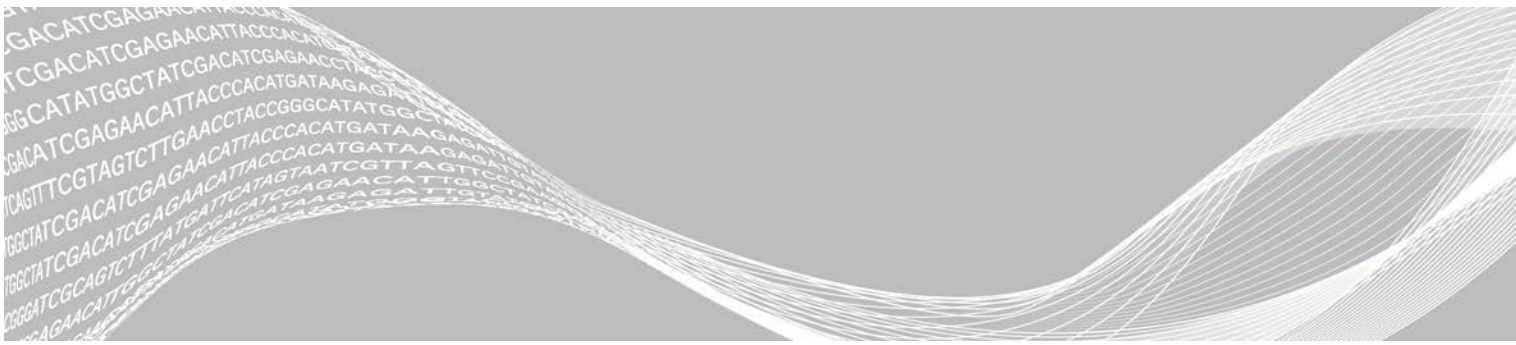
illumina®

NovaSeq 6000

دليل نظام التسلسل



المستند رقم 1000000019358 إصدار 11 ARA المادة رقم 20023471
فبراير 2019

للاستخدام البحثي فقط. لا يستخدم في الإجراءات التشخيصية.

مملوك لشركة ILLUMINA

هذه الوثيقة ومحتوياتها مملوكة لشركة Illumina, Inc، والشركات التابعة لها ("Illumina")، وتهدف فقط إلى الاستخدام التعاقدي لعملائها فيما يتعلق باستخدام المنتج (المنتجات) الموضح هنا وليس لأي غرض آخر. يجب ألا يتم استخدام هذه الوثيقة ومحتوياتها أو توزيعها لأي غرض آخر و/أو بخلاف ذلك الإبلاغ أو الكشف أو النسخ بأي شكل من الأشكال دون موافقة خطية مسبقة من شركة Illumina. لا تقدم شركة Illumina أي تراخيص تتعلق ببراءات الاختراع، أو العلامات التجارية أو حقوق التأليف والنشر، أو حقوق القانون العام ولا الحقوق المماثلة لأي أطراف أخرى بموجب هذه الوثيقة.

يجب على الموظفين المؤهلين والمدربين بشكل جيد اتباع التعليمات الواردة في هذه الوثيقة بشكل صارم وصريح من أجل ضمان الاستخدام السليم والآمن للمنتج (المنتجات) الموضحة بهذه الوثيقة. تجب قراءة جميع محتويات هذه الوثيقة وفهمها بشكل كامل قبل استخدام هذا المنتج (هذه المنتجات).

قد يؤدي عدم قراءة التعليمات الواردة بهذه الوثيقة بشكل كامل واتباعها بوضوح إلى حدوث تلف في المنتج (المنتجات)، أو إصابة للأشخاص، بما في ذلك المستخدم أو أشخاص آخرين، وإلحاق الضرر بممتلكات أخرى، وستفقد أي ضمان ينطبق على المنتج (المنتجات).

لا تتحمل شركة ILLUMINA أي مسؤولية ناجمة عن سوء استخدام المنتج (المنتجات) الموضح هنا (بما في ذلك البرامج أو أجزاء منها).

حقوق الطبع والنشر © لعام 2019 لصالح شركة Illumina, Inc، جميع الحقوق محفوظة.

جميع العلامات التجارية هي ملك لشركة Illumina, Inc. أو أصحابها المعنيين. للحصول على معلومات محددة حول العلامات التجارية، راجع www.illumina.com/company/legal.html.

تاريخ المراجعة

مستند	التاريخ	وصف التغيير
المادة رقم 20023471 المستند رقم 1000000019358 إصدار 11	فبراير 2019	تم تحديث جدول كمية مجموعة المكتبة لسير عمل Xp.
المادة رقم 20023471 المستند رقم 1000000019358 إصدار 10	يناير 2019	تمت إضافة معلومات خلية التدفق SP. تم تحديث جداول كمية مجموعة المكتبة الموصى بها لعمليات سير عمل القياسي وXp.
المادة رقم 20023471 المستند رقم 1000000019358 إصدار 09	نوفمبر 2018	تم تصحيح الرابط إلى صفحة دعم NovaSeq 6000. تم تصحيح التحذير المفقود.
المادة رقم 20020483 المستند رقم 1000000019358 إصدار 08	سبتمبر 2018	تمت إضافة معلومات حول مجموعة NovaSeq 6000 S4 (200 دورة). تمت إضافة معلومات الحساب. تمت إضافة تركيزات تحميل خلية أحادية. تعليمات محدثة للبدء المتدرج لعمليات التشغيل. تعليمات محدثة حول تسجيل الدخول إلى BaseSpace. تعليمات محدثة حول عملية فحص ما قبل التشغيل. تمت إضافة ملاحظات حول ما يلزم لتأكيد إيقاف التشغيل أو إعادة التشغيل. تمت إضافة ملاحظة حول عملية الغسيل غير المكتملة التي تتم بعد عملية التشغيل. معلومات موضحة حول غسيل الصيانة. معلومات موضحة حول تحديث البرنامج.
المادة رقم 20020483 المستند رقم 1000000019358 إصدار 07	أبريل 2018	الاستخدام المُوضّح لأنبوب المكتبة لخلط الكواشف في خطوة التعزيز قبل إجراء التسلسل. تمت إضافة جدول بأوصاف الرموز؛ وذلك للرموز على المستهلكات أو مواد تغليف المستهلكات. تمت إضافة معلومات حول خدمة المراقبة الاستباقية لدى Illumina في قسم أوضاع إعداد عملية التشغيل. تمت إضافة معلومات بشأن واجهة برمجة تطبيقات نظام إدارة المعلومات المختبرية NovaSeq LIMS. أوصاف البرامج المحدثة لبرنامج تحكم NovaSeq إصدار 1.4.0 العدد المطابق المحدث للقراءات التي تمر من الفلتر لخلايا التدفق S2. تركيزات التحميل الموصى بها المحدثة لسير عمل NovaSeq Xp. تعليمات محدثة لفتح عبوة خلية التدفق. إجراء موضح لتحميل المكتبات في خلية التدفق. تمت إضافة ملاحظة بشأن إتاحة الجهاز لبدء غسيل الصيانة. تمت إضافة معلومات بشأن مؤقت بدء العد التنازلي المتدرج. تعليمات محدثة بشأن كيفية إضافة قواعد سياسات تقييد البرامج SRP وحذفها.

مستند	التاريخ	وصف التغيير
المستند رقم 1000000019358 إصدار 06	فبراير 2018	تمت إضافة ملاحظة في قسم خلية التدفق لتوضيح إصدار البرنامج 1.3.1 المطلوب عند استخدام خلية التدفق S1. أوصاف وأحجام قياسية محدثة في الجدول في قسم *طرق تحميل المكتبة*. تمت إضافة تنبيه في قسم *مكونات مجموعة الكاشف*. تمت الإضافة إلى جدول المستهلكات أنابيب 0.5 و1.5 مللي، ورؤوس الماصة ذات أحجام 20، و200 و1000 ميكرولتر. تمت إضافة أسطوانة متدرجة إلى جدول المعدات. تمت إضافة قسم *تحضير خلية التدفق* في الفصول 4 و5، وهي خطوات تم نقلها من الفصل 6 إلى هذه الأقسام. الحجم الإجمالي المحدث لخلية التدفق S1 في الفصل 4. تمت إضافة جدول كمية مجموعة المكتبة الموصى بها إلى قسم *إنشاء مجموعة مكتبات معيارية* في الفصل 4. خطوات محدثة لقسم *إذابة خرطوشة SBS* و*خرطوشة العنقود* في الفصل 4 و5. تعليمات إذابة موضحة في قسم *تحضير خلية التدفق*. معلومات إذابة محدثة في قسم *تركيزات التحميل الموصى بها لـ NovaSeq Xp*. جدول محدث لكمية مجموعة المكتبة الموصى بها في قسم *إنشاء مجموعة مكتبات معيارية* في الفصل 5. تمت إضافة جملة لتوضيح ضرورة استخدام خلية التدفق في غضون 12 ساعة بعد إزالتها من العبوة في قسم *ملخص سير عمل NovaSeq Xp* و*تحضير خلية التدفق*.
المستند رقم 1000000019358 إصدار 05	ديسمبر 2017	تمت إضافة توضيح حول أنبوب المكتبة الفارغة لـ Xp في قسم الرسم التخطيطي لسير عمل التسلسل. في قسم تعديل خواص مجموعة المكتبة وPhiX Control لسير العمل القياسي، تم تحديث أحجام Tris-HCl في الجدول للخطوة رقم 5. في قسم تحضير محلول ExAmp MasterMix لسير عمل NovaSeq Xp، تمت إضافة ملاحظة بعد الخطوة رقم 4 للإشارة إلى أنه يلزم إجراء حركة دوامية للحصول على أفضل النتائج. في قسم تحميل المكتبات في خلية التدفق لسير عمل NovaSeq Xp، تمت إضافة تذكير بعد الخطوة رقم 3 لتحميل العينات ببطء.
المادة رقم 20023471 المستند رقم 1000000019358 إصدار 04	أكتوبر 2017	تمت إضافة ممر تحميل فردي إلى قائمة ميزات الجهاز. المستهلكات - تمت إضافة مجموعة NovaSeq Xp ذات ممرين ومجموعة NovaSeq Xp ذات 4 ممرات. تمت إضافة حزمة مشعب NovaSeq Xp ذات ممرين وحزمة مشعب NovaSeq ذات أربعة ممرات. المعدات - تمت إضافة حوض خلية تدفق NovaSeq Xp وماصة P200 لسير عمل NovaSeq Xp تمت إضافة فصل تحضير المستهلكات لسير عمل NovaSeq Xp تم نقل قسم إفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة من فصل التسلسل إلى بداية فصول سير عمل NovaSeq Standard وسير عمل NovaSeq Xp. جدول محدث لتركيز المكتبة المجمّعة وجدول تركيزات التحميل الموصى بها لسير العمل القياسي.
المادة رقم 20020483 المستند رقم 1000000019358 إصدار 03	سبتمبر 2017	تم تحديث أوصاف البرامج لبرنامج التحكم NovaSeq إصدار 1.2، والذي يتضمن الدعم لخليتي التدفق S1 وS4. تمت إضافة متطلبات مساحة القرص لتشغيل خلية تدفق مزدوجة لخليتي التدفق S1 وS4. تم تحديد متطلبات التسمية لملفات *.json المعينة. تمت إعادة تنظيم قسم معلومات نظرة عامة للمجموعة في فصل *المجموعات والملحقات*. يتناول هذا الفصل عمليات التهيئة، والمكونات وتسمية التوافق لمجموعات الكاشف وتحميل المكتبة. تمت إضافة مجموعة الكاشف NovaSeq 6000 إلى المستهلكات التي يوفرها المستخدم. تم تحديث تعليمات تجميع المكتبة وتعديل خواصها لتشمل معلومات عن خليتي التدفق S1 وS4. تم تحديث التعليمات حول إذابة خراطيش الكاشف لتتطلب حمام ماء لمدة ساعتين لخراطيش S1 وS2، وحمام ماء لمدة أربع ساعات لخرطوشة S4. تم تحديث الأوصاف لأنبوب المكتبة، وخراطيش الكاشف وخلايا التدفق لتشمل مكونات S4. تمت إضافة قسم حول تحديثات البرنامج التلقائية في فصل الصيانة. تم استبدال المرجع إلى *تقليل مساحة تخزين بيانات الجينوم الكامل (المنشور رقم. 013-2012-970)* بمرجع *مقارنة جودة البيانات لسلسلة منتجات NovaSeq وHiSeq X Ten (المنشور رقم -770 010-2017)*. تمت إضافة ملاحظة إلى الخطوة رقم 3 في *إدخال مَعلمات التشغيل* في الفصل 6. تم تحديث قسم *شرائح خلية التدفق* ليشمل معلومات حول شرائح S1 وS4.

مستند	التاريخ	وصف التغيير
المادة رقم 20018871 المستند رقم 1000000019358 إصدار 02	أبريل 2017	تمت إضافة المعلومات التالية: • المستهلكات التي توفرها Illumina اللازمة لعملية التشغيل. • ظروف التخزين الخاصة بمكونات مجموعة الكاشف. • توصيات لتركيز تحميل المكتبة. • تخفيف هيدروكسيد الصوديوم لخليتي التدفق. • الخطوة الخاصة بترك خلية التدفق تصل إلى درجة حرارة الغرفة قبل التحميل. • خطوة تغيير القفاز بعد تفريغ زجاجات الكاشف المستخدمة. • تهيئة إخراج نظام إدارة المعلومات المختبرية LIMS لأنظمة نظام إدارة المعلومات المختبرية LIMS الخاصة بطرف آخر. • اصطلاح التسمية لأوراق العينة. • أيقونات إدارة العملية واستكشاف الأخطاء وإصلاحها. • ملحق يحتوي على مميزات أمان Windows وتعليمات التهيئة. • معلومات جهة الاتصال الخاصة بالمساعدة الفنية. زيادة التوقيت الخاص بإذابة خرطوشة الكاشف إلى 4 ساعات. التعليمات الخاصة بزيادة PhiX المُحدثة للتغيير بنسبة 1% من حجم زيادة PhiX إلى 0.9 ميكرولتر واستخدام 10 ملم من Tris-HCl، بالأس الهيدروجيني 8.5 إلى تخفيف 10 نانومتر من PhiX. التعليمات المُحدثة لتنظيف خلية التدفق ومنصة خلية التدفق وذلك عندما تكون الجسيمات مرئية فقط. تردد غسيل الصيانة المُحدث لكل 14 يومًا. تعليمات إعداد المستهلك التي تم إعادة تنظيمها ودمجها لتحسين الاستمرارية. إعادة تسمية الأبواب الفرنسية لأبواب حجرة السوائل.
المادة رقم 20018406 المستند رقم 1000000019358 إصدار 01	مارس 2017	تم تصحيح اسم العمود في شاشة Process Management (إدارة العمليات) لإجراء التسلسل.
المادة رقم 20015871 المستند رقم 1000000019358 إصدار 00	فبراير 2017	الإصدار المبدئي.

جدول المحتويات

الفصل 1 نظرة عامة **1**
المقدمة 1
المصادر الإضافية 2
نظرة عامة على التسلسل 2
سير عمل التسلسل 3
مكونات الجهاز 4

الفصل 2 المجموعات والملحقات **9**
نظرة عامة على المجموعات 9
عناصر مجموعة الكاشف 10
مكونات مجموعة NovaSeq Xp 14
حوض خلية تدفق NovaSeq Xp 14
أوصاف الرموز 15

الفصل 3 بدء الاستخدام **17**
بدء تشغيل الجهاز 17
إعدادات التهيئة 18
المستهلكات والمعدات التي يوفرها المستخدم 23

الفصل 4 سير العمل القياسي: إعداد المستَهلكات **26**
الطرق 26
إرشادات المكتبة 26
إذابة خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود 26
إفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة 27
تحضير خلية التدفق 28
تجميع خواص المكتبات وتعديلها للتسلسل 29

الفصل 5 سير عمل NovaSeq Xp: إعداد المستَهلكات **33**
ملخص سير عمل NovaSeq Xp 33
الطرق 34
إرشادات المكتبة 34
إذابة خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود 34
إفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة 35
تحضير خلية التدفق 36
المجموعة، وتعديل الخواص، وتحميل المكتبات لإجراء التسلسل 37

الفصل 6 التسلسل **45**
إعداد عملية تشغيل التسلسل 45
مراقبة تقدم عملية التشغيل 51
البدء المتدرج لعمليات التشغيل 52
حذف عملية التشغيل 52
موقع الفصل رقم 30 53
غسيل ما بعد التشغيل التلقائي 53

الفصل 7 الصيانة **54**
الصيانة الوقائية 54
إجراء غسيل الصيانة 54
تحديثات البرنامج 57

الملحق A استكشاف الأخطاء وإصلاحها **59**
مصادر استكشاف الأخطاء وإصلاحها 59
ملفات استكشاف الأخطاء وإصلاحها 59
أخطاء الفحص ما قبل التشغيل 59
استكشاف الأخطاء الخاصة بإدارة العملية وإصلاحها 60
فشل عملية التشغيل قبل العنقدة 60
إنهاء عملية تشغيل 61
إيقاف تشغيل الجهاز 61

الملحق B التحليل في الوقت الفعلي **63**
نظرة عامة على التحليل في الوقت الفعلي 63
سير عمل التحليل في الوقت الفعلي 64

الملحق C مجلدات وملفات الإخراج **68**
بنية مجلد الإخراج للتسلسل 68
ملفات الإخراج للتسلسل 69

الملحق D أمان Windows **70**
عمليات تهيئة الأمان 70
متطلبات كلمة المرور 70
جدار حماية Windows 70
مجموعة أدوات تجربة التخفيف المُحسنة 70
سياسات تقييد البرنامج 70

الفهرس **73**

المساعدة الفنية **76**

المستند رقم 1000000019358 إصدار 11 ARA المادة رقم 20023471
للاستخدام البحثي فقط. لا يستخدم في الإجراءات التشخيصية.

الفصل 1 نظرة عامة

المقدمة 1
المصادر الإضافية 2
نظرة عامة على التسلسل 2
سير عمل التسلسل 3
مكونات الجهاز 4

المقدمة

يجمع نظام تسلسل Illumina® NovaSeq™ 6000 بين الإنتاجية القابلة للتطوّر وتقنية التسلسل المرنة داخل النظام الأساسي على مستوى الإنتاج من خلال نظام مُثبّت على الطاولة يتمتّع بالكفاءة وذي تكلفة منخفضة.

الميزات

- **التسلسل القابل للتطوير**—يتطور NovaSeq 6000 ليصل إلى تسلسل ذي مستوى إنتاجي عالٍ مع بيانات عالية الجودة لمجموعة كبيرة من التطبيقات.
- **مخرجات قابلة للتعديل**—يُمثل NovaSeq 6000 نظام خلية تدفق مزدوجة مع مجموعة كبيرة من المخرجات. قم بإجراء تسلسل لخلية تدفق واحدة، أو لخليتي تدفق مع أطوال قراءة مختلفة في وقتٍ واحد. قم بالمزج والمطابقة لثلاثة أنواع من خلايا التدفق وأطوال القراءة المختلفة.
- **خلية تدفق نموذجية**—تنشئ خلية التدفق النموذجية عناقيد بينها مسافات مُحكمة. يساعد قِصر المسافة بين مَجمعات النانو في زيادة كثافة العنقود وإخراج البيانات.
- **خلط ExAmp المدمج**—يعمل NovaSeq 6000 على مزج كواشف ExAmp بالمكتبة، وتضخيم المكتبة، وإجراء إنشاء العناقيد لسير عمل تسلسل مبسط.
- **تحميل الممر الفردي**—يسمح حوض خلية التدفق NovaSeq Xp بتحميل المكتبات مسبقًا في الممرات الفردية لخلية التدفق ويقلل حجم تحميل المكتبة.
- **المسح الضوئي الخطي عالي الإنتاجية**—يستخدم NovaSeq 6000 كاميرا واحدة مع تكنولوجيا المسح الضوئي ثنائية الاتجاه للتصوير السريع لخلية التدفق في قناتين ملونتين في وقتٍ واحد.
- **التحليل في الوقت الفعلي (RTA)**—يستخدم NovaSeq 6000 تنفيذ التحليل في الوقت الفعلي (RTA) المعروف باسم التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3). يُحلل هذا البرنامج المتكامل الصور والاستدعاءات الأساسية.
- **تكامل مركز تسلسل BaseSpace™**— يتكامل سير عمل التسلسل مع مركز تسلسل BaseSpace، وبيئة حوسبة علم الجينوم لشركة Illumina لتحليل البيانات، والتخزين، والتعاون. كلما تقدم التشغيل، تتدفق ملفات الإخراج إلى البيئة في الوقت الفعلي.
- **جاهزية نظام إدارة المعلومات المختبرية BaseSpace Clarity LIMS**—قم بتحسين الكفاءة التشغيلية مع تتبع شامل للنماذج والكواشف، وسير العمل الآلي والعملية التشغيلية المتكاملة للجهاز.

المصادر الإضافية

توفر صفحات الدعم الخاصة بجهاز التسلسل NovaSeq 6000 على موقع Illumina الإلكتروني مصادر إضافية للنظام. تتضمّن تلك المصادر منتجات البرامج، والتدريب، والمنتجات المتوافقة، والوثائق التالية. راجع صفحات الدعم باستمرار للحصول على أحدث الإصدارات.

المصدر	الوصف
محدد البروتوكول المخصص	معالج لإنشاء وثائق متكاملة مخصصة تتناسب مع طريقة تحضير المكتبات، ومعلمات التشغيل، وطريقة التحليل المستخدمة لتشغيل التسلسل.
دليل إعداد موقع سلسلة NovaSeq (مستند رقم 1000000019360)	يقدم مواصفات المساحة المختبرية، والمتطلبات الكهربائية، واعتبارات البيئة والشبكة.
دليل السلامة والامتثال لسلسلة NovaSeq (مستند رقم 1000000019357)	يقدم معلومات حول اعتبارات السلامة التشغيلية، وبيانات الامتثال، ووضع علامات على الجهاز.
دليل امتثال قارئ تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID) (مستند رقم 1000000002699)	يقدم معلومات حول قارئ تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID) في الجهاز، بما في ذلك شهادات الامتثال واعتبارات السلامة.
دليل المشرع المخصص لسلسلة NovaSeq (المستند رقم 1000000022266)	يقدم معلومات حول استبدال مشرع تسلسل شركة Illumina بمشرع تسلسل مخصص.

نظرة عامة على التسلسل

إنشاء العناقيد

خلال إنشاء العنقود، يتم توجيه جزيئات DNA المفردة إلى سطح خلية التدفق، ويتم تضخيمها في الوقت نفسه لتكوّن العناقيد. بالنسبة لسير العمل القياسي، يُخلط محلولExAmp Master Mix مع المكتبات المدمجة بالجهاز قبل إنشاء العناقيد. بالنسبة لسير عمل NovaSeq Xp، تُخلط كواشف ExAmp والمكتبات ويتم نقلها إلى خلية التدفق خارج الجهاز. تختلف الأحجام حسب نوع خلية التدفق وسير العمل.

التسلسل

يتم تصوير العناقيد باستخدام المسح الضوئي ثنائي الاتجاه وكيمياء التسلسل ثنائي القناة. تستخدم الكاميرا أجهزة استشعار التي تكشف الضوء الأحمر والأخضر لتصوير كل قطاع وإنشاء صور حمراء وخضراء للقطاع بأكمله في وقت واحد. بعد التصوير، يتم إجراء الاستدعاء الأساسي للعناقيد داخل كل شريحة على أساس نسبة الإشارة الحمراء إلى الإشارة الخضراء لكل عنقود، والتي تستند على الموقع الذي تحدده خلية التدفق النموذجية. يتم تكرار هذه العملية لكل دورة من التسلسل.

التحليل

يقوم برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) بنقل ملفات (*.cbcl) للاستدعاء الأساسي تلقائيًا إلى موقع مجلد الإخراج المحدد من أجل تحليل البيانات، وذلك أثناء تقدم التشغيل.

تتوفر عدة طرق للتحليل وذلك اعتمادًا على التطبيق الخاص بك. لمزيد من المعلومات، قم بزيارة صفحة دعم مركز تسلسل BaseSpace على موقع شركة Illumina.

سير عمل التسلسل

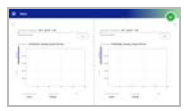
قم بإذابة خرطوشة SBS وخراطيش كاشف العنقود.

قم بتجميع المكتبات وتعديل خواصها. بالنسبة لسير العمل القياسي، أضف المكتبات لأنبوب المكتبة. بالنسبة لسير عمل NovaSeq Xp، قم بتحميل خليط ExAmp/المكتبة في خلية التدفق.
بالنسبة لكلتا عمليتي سير العمل، قم بتحميل أنبوب المكتبة إلى خرطوشة العنقود المذابة.

من واجهة البرنامج، حدد **Sequence (تسلسل)** واختر تشغيل خلية تدفق واحدة أو مزدوجة.

قم بتفريغ المستهلكات من عملية التشغيل السابقة وتحميل مستهلكات جديدة لعملية التشغيل الحالية.

حدد معلمات التشغيل من شاشة إعداد التشغيل. إذا تمت تهيئة مركز تسلسل BaseSpace، فقم بتسجيل الدخول من شاشة Log In (تسجيل الدخول).
بعد اكتمال فحوصات ما قبل عملية التشغيل، تبدأ عملية التشغيل تلقائيًا.



قم بمراقبة عملية التشغيل من شاشة Sequence (التسلسل)، أو من مركز تسلسل BaseSpace إذا كانت مراقبة التشغيل مفعّلة، أو من كمبيوتر الشبكة باستخدام عارض تحليل التسلسل.
يتم نقل الملفات إلى مجلد الإخراج المحدد.

يبدأ غسيل الجهاز تلقائيًا عند اكتمال التسلسل.

طرق تحميل المكتبة

يتم تحميل المكتبات في خلية تدفق NovaSeq 6000 باستخدام إحدى الطريقتين التاليتين، حسب سير العمل المحدد. يختلف إعداد تشغيل التسلسل بناءً على سير العمل. تأكد دومًا من اتباع التعليمات الخاصة بطريقتك. راجع *سير العمل القياسي: إعداد المستَهلكات* في الصفحة 26 و*سير عمل NovaSeq Xp: إعداد المستَهلكات* في الصفحة 33.

الجدول 1 طرق تحميل المكتبة

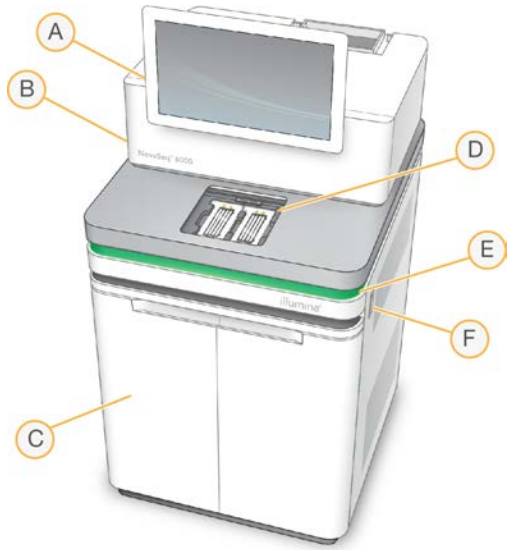
سير العمل	تحميل مجموعة المكتبة وطريقة خلط ExAmp	قابلية عنونة الممر الفردي وتحليل البيانات	حجم التحميل* أوضاع SP/S1–S2–S4 (بالميكرولتر)
قياسي	يتم تحميل مجموعة مكتبة فردية في أنبوب المكتبة، وتخلط عند دمجها في أنبوب المكتبة مع كواشف ExAmp، ويتم نقلها تلقائيًا إلى خلية التدفق لتكوين العناقيد وإجراء التسلسل. تستخدم خطوة التعزيز قبل إجراء التسلسل الكواشف في خرطوشة العنقود وأنبوب المكتبة لإنشاء خليط التبريد الذي يساعد على زيادة كفاءة التعنقد.	يتم توزيع مجموعة المكتبة الفردية، وتسلسلها، عبر جميع ممرات خلية التدفق. يتم تحليل قراءة جميع الممرات بشكل إجمالي.	150–225–465 ميكرولتر (خلية التدفق بأكملها)
NovaSeq Xp	تُخلط مكتبة واحدة أو أكثر (يتطابق الرقم مع عدد ممرات خلية التدفق) يدويًا مع كواشف ExAmp خارج الجهاز، ويتم تحميلها مباشرةً في ممرات فردية لخلية التدفق باستخدام حوض خلية تدفق NovaSeq Xp. يتم تحميل خلية التدفق المملوءة بعد ذلك في الجهاز لتكوين العناقيد وتسلسلها. تستخدم خطوة التعزيز قبل إجراء التسلسل أنبوب المكتبة الفارغ لخلط الكواشف من خرطوشة العنقود لإنشاء خليط التبريد الذي يساعد على زيادة كفاءة العناقيد.	يتم تحميل كل مكتبة في ممر منفصل لخلية التدفق، ويتم تسلسلها بعد ذلك. يمكن استخدام مجموعات مختلفة، أو قواسم من المجموعة نفسها، أو تركيبات عشوائية. ووفقًا لذلك، يتم تحليل قراءات من الممرات المختلفة بشكل فردي أو إجمالي.	27–33–45 ميكرولتر (ممر فردي)

*يتطلب سير عمل NovaSeq Xp تركيزًا أقل بنسبة 25 إلى 50٪ من المكتبات التي تم تعديل خواصها مقارنة بسير العمل القياسي.

مكونات الجهاز

يحتوي نظام تسلسل NovaSeq 6000 على شاشة مراقبة تعمل باللمس، وشريط الحالة، وزر طاقة مع منافذ USB مجاورة، وثلاث حجرات.

الشكل 1 المكونات الخارجية



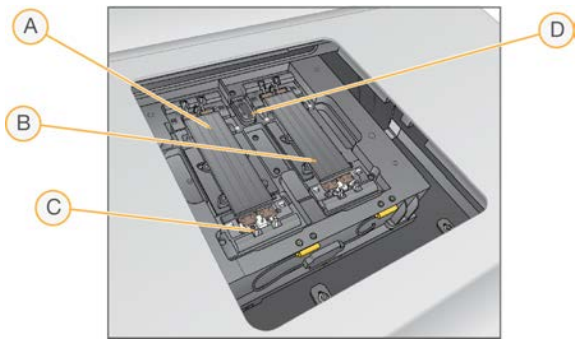
A **شاشة مراقبة تعمل باللمس**—تعرض واجهة برنامج NVCS الخاصة بتهيئة النظام، وإعداد عملية التشغيل والمراقبة.
B **حجرة البصريات**—تحتوي على العناصر البصرية التي تمكّن من تصوير السطح الثنائي لخلايا التدفق.
C **حجرة السوائل**—تحتوي على الكاشف، وخراطيش التخزين المؤقت، والزجاجات الخاصة بالكواشف المستخدمة.
D **حجرة خلية التدفق**—تثبت خلايا التدفق.
E **شريط الحالة**—يشير إلى حالة خلية التدفق عندما تكون جاهزة للتسلسل (أخضر)، أو المعالجة (أزرق)، أو بحاجة إلى الانتباه (برتقالي).
F **منفذ الطاقة ومنافذ USB**—يسمح بالوصول إلى زر الطاقة ووصلات USB الخاصة بالعناصر الطرفية.

حجرة خلية التدفق

تحتوي حجرة خلية التدفق على منصة خلية التدفق، والتي تحمل خلية التدفق A على الجانب الأيسر وخلية التدفق B على الجانب الأيمن. يحتوي كل جانب على 4 مشابك لوضع خلية التدفق وتثبيتها تلقائيًا.

يقوم محدد المنظر الخاص بالمحاذاة البصرية الذي يتم تركيبه على منصة خلية التدفق بتشخيص المشكلات البصرية وتصحيحها. يقوم محدد المنظر الخاص بالمحاذاة البصرية بإعادة ترتيب النظام وتعديل تركيز الكاميرا لتحسين نتائج التسلسل وذلك عند يقوم برنامج تحكم NVCS بالمطالبة بذلك.

الشكل 2 منصة خلية التدفق



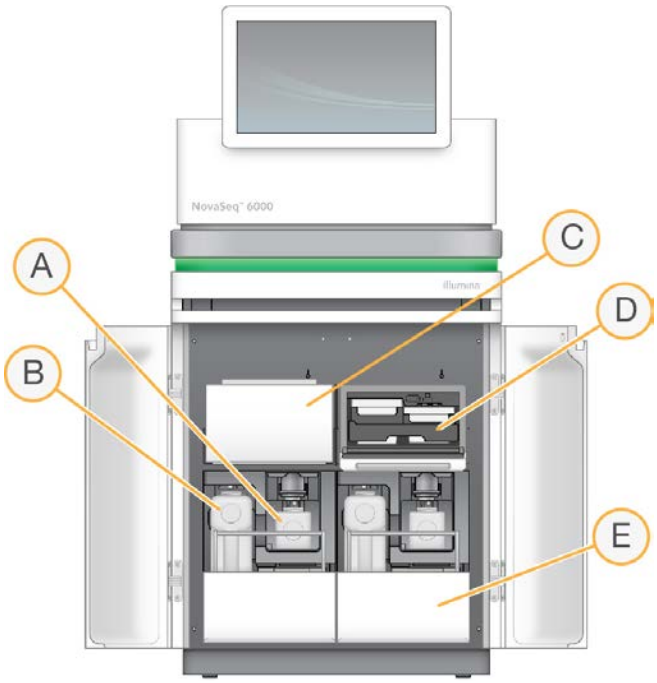
A حامل خلية التدفق الخاصة بالجانب A
B حامل خلية التدفق الخاصة بالجانب B
C مشبك خلية التدفق (1 من أصل 4 لكل جانب)
D مُحدد المنظر الخاص بالمحاذاة البصرية

يتحكم البرنامج في فتح باب حجرة خلية التدفق وغلقه. يُفتح الباب تلقائيًا لتحميل خلية تدفق لإجراء غسيل الصيانة أو التشغيل. بعد الانتهاء من التحميل، يُغلق البرنامج باب الحيز، ويحرك خلية التدفق إلى موقعها، ويربط المشابك ومانع التفريغ. تتحقق أجهزة الاستشعار من وجود خلية التدفق وتوافقها.

حجرة السوائل

يتطلب إعداد عملية التشغيل الوصول إلى حجرة السوائل لتحميل الكواشف، والتخزين المؤقت، وإفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة. يُحيط بابان بحجرة السوائل، والتي تنقسم إلى جانبين متطابقين لخلية التدفق A وخلية التدفق B.

الشكل 3 مكونات حجرة السوائل



A **زجاجة الكاشف المستخدمة الصغيرة**—تحمل الكواشف المستخدمة من خرطوشة العنقود، مع حامل غطاء لسهولة تخزين الغطاء.

B **زجاجة الكاشف المستخدمة الكبيرة**—تحمل الكواشف المستخدمة من خرطوشة SBS وخرطوشة التخزين المؤقت، مع حامل غطاء لسهولة تخزين الغطاء.

C **مبرّد الكاشف**—يعمل على تبريد خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود.

D **درج مبرّد الكاشف**—المواقع المحدّدة بالألوان تحمل خرطوشة SBS الموجودة على اليسار (الموقع المحدد باللون الرمادي)، وتحمل خرطوشة العنقود على اليمين (الموقع المحدد باللون البرتقالي).

E **درج التخزين المؤقت**—يحمل زجاجة الكواشف المستخدمة الكبيرة الموجودة على اليسار، وخرطوشة التخزين المؤقت الموجودة على اليمين.

الكواشف المستخدمة

يتم تصميم نظام السوائليات لتوجيه كواشف خرطوشة العنقود، والتي يمكن أن تكون خطرة، إلى زجاجة الكاشف المستخدمة. يتم توجيه الكواشف من خرطوشة SBS وخرطوشة التخزين المؤقت إلى زجاجة الكاشف الكبيرة المستخدمة. ومع ذلك، يمكن أن يحدث انتقال للتلوث بين تدفقات الكاشف المستخدم. للحفاظ على السلامة، افترض احتواء زجاجتي الكاشف المستخدمتين على مواد كيميائية يمكن أن تكون خطرة. تقدم ورقة بيانات السلامة (SDS) معلومات كيميائية مفصلة.

ملاحظة

إذا تمت تهيئة النظام لجمع الكواشف المستخدمة خارجيًا، سيتم توجيه التدفق خارجيًا إلى زجاجة الكاشف الكبيرة المستخدمة. تنتقل كواشف خرطوشة العنقود دائمًا إلى زجاجة الكاشف المستخدمة الصغيرة.

برنامج النظام

تتضمن مجموعة برامج الجهاز تطبيقات متكاملة تقوم بإجراء عمليات تشغيل التسلسل، والتحليل في الجهاز والوظائف ذات الصلة.

- **برنامج تحكم NovaSeq (NVCS)**—يرشدك إلى خطوات إعداد عملية تشغيل التسلسل، والتحكم في عمليات الجهاز، ويعرض الإحصاءات أثناء تقدم عملية التشغيل. للتأكد من إجراء التفريغ والتحميل للمستهلكات بطريقة صحيحة، يشغل برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) مقاطع فيديو تعليمية أثناء إعداد عملية التشغيل.
- **التحليل في الوقت الفعلي (RTA)**—يجري تحليلاً للصورة والاستدعاء الأساسي أثناء عملية التشغيل. يستخدم NovaSeq 6000 التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3)، والذي يتضمن الهيكلة، والأمان، وغيرها من تطوير المزايا الأخرى لتحسين الأداء. للاطلاع على المزيد من المعلومات، راجع *التحليل في الوقت الفعلي* في الصفحة 63.
- **خدمة النسخ العالمية (UCS)**—تنسخ ملفات الإخراج من التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) وبرنامج تحكم NovaSeq (NVCS) إلى مجلد الإخراج خلال إحدى عمليات التشغيل. تنقل الخدمة أيضًا البيانات إلى مركز تسلسل BaseSpace إذا كان ذلك مطبقًا. في حال انقطاع خدمة النسخ العالمية أثناء عملية التشغيل، تقوم الخدمة بمحاولات متعددة لإعادة الاتصال واستئناف نقل البيانات تلقائيًا.

أيقونات الحالة

تشير أيقونة الحالة في واجهة برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) إلى حالة التشغيل. يشير الرقم الموجود على الأيقونة إلى عدد أوضاع الحالة.

تومض الأيقونة عند تغيير حالة التشغيل لتنبيهك. حدد الأيقونة لعرض وصف الحالة. حدد **Acknowledge (إقرار)** لمسح الرسالة، ثم **Close (إغلاق)** لإغلاق مربع الحوار.

الجدول 2 أيقونات حالة برنامج تحكم NovaSeq (NVCS)

أيقونة الحالة	اسم الحالة	الوصف
	الحالة جيدة	يعمل النظام بشكل طبيعي.
	المعالجة	يقوم النظام بالمعالجة.
	تحذير	تم التحذير ويجب الانتباه. لا تقوم التحذيرات بإيقاف عملية التشغيل أو تطلب اتخاذ إجراء قبل المتابعة.
	خطأ	حدث خطأ. تتطلب الأخطاء اتخاذ إجراء قبل متابعة عملية التشغيل.

إدارة العملية

تتيح شاشة Process Management (إدارة العمليات) إمكانية الوصول إلى محرك الحساب (CE) ومحرك القرص الثابت (C:\). استخدم الشاشة لمراقبة تقدم عملية التشغيل، وحذف عمليات التشغيل، وأيضًا إدارة مساحة القرص. لا تحذف مطلقًا أي ملفات ومجلدات مباشرةً من على (C:\).

تعرض Process Management (إدارة العمليات) مساحة القرص المتوفرة، والمساحة المستخدمة في محرك الحساب (CE) و(C:\)، وحالة عمليات التشغيل باستخدام مساحة القرص. تُحدد أعمدة اسم وتاريخ التشغيل كل عملية تشغيل. تُبين أعمدة حالة التشغيل، وBaseSpace، والشبكة حالة كل عملية من عمليات التشغيل.

الجدول 3 أيقونات الحالة الخاصة بإدارة العملية

عملية	أيقونة	الوصف
حالة عملية التشغيل	Running	عملية التشغيل قيد التقدم.
	Complete	أنهت عملية التشغيل إجراء التسلسل.
الشبكة	Copying	يتم الآن نسخ الملفات إلى مجلد الإخراج على الشبكة.
	Complete	يتم نسخ جميع الملفات إلى مجلد الإخراج في الشبكة.
	N/A	لا يمكن تطبيقه وذلك لأنه لم تتم تهيئة عملية التشغيل للتحميل إلى مجلد إخراج الشبكة أو أن حالة التحميل غير معروفة. لاستكشاف الأخطاء وإصلاحها، راجع *استكشاف الأخطاء الخاصة بإدارة العملية وإصلاحها* في الصفحة 60.
BaseSpace	Uploading	يتم الآن تحميل الملفات إلى مركز تسلسل BaseSpace.
	Complete	يتم تحميل جميع الملفات إلى مركز تسلسل BaseSpace.
	N/A	لا يمكن تطبيقه وذلك لأنه لم تتم تهيئة عملية التشغيل للتحميل إلى مركز تسلسل BaseSpace أو أن حالة التحميل غير معروفة. لاستكشاف الأخطاء وإصلاحها، راجع *استكشاف الأخطاء الخاصة بإدارة العملية وإصلاحها* في الصفحة 60.

قبل بدء عملية تشغيل خلية التدفق، يجب تلبية الحد الأدنى من متطلبات مساحة محرك الحساب (CE) ومحرك القرص الثابت (C:\).

ملاحظة

من أجل بدء عملية تشغيل خلية تدفق واحدة، يكون الحد الأدنى من متطلبات المساحة نصف تلك المذكورة في الجدول التالي.

الجدول 4 الحد الأدنى من متطلبات مساحة محرك الحساب (CE) ومحرك القرص الثابت (C:\) لعمليات تشغيل خلايا التدفق المزدوجة

خلية التدفق	مساحة محرك الحساب لكل دورة	مساحة محرك القرص الثابت (C:\) لكل زوج من خلية التدفق
SP	.5 جيجابايت	5 جيجابايت
S1	1.35 جيجابايت	20 جيجابايت
S2	2.7 جيجابايت	20 جيجابايت
S4	4.3 جيجابايت	40 جيجابايت

لحساب المساحة الإجمالية المطلوبة في محرك الحساب (CE) لعملية التشغيل، قم بضرب القيمة المُدرجة أدنى "مساحة محرك الحساب (CE) لكل دورة" في إجمالي القيم الطولية للقراءة 1، والقراءة 2، والمؤشر 1، والمؤشر 2 (راجع *إدخال معلمات التشغيل* في الصفحة 49). على سبيل المثال، لإجراء عملية تشغيل خلية تدفق مزدوجة S4، و150 دورة ذات نهاية مزدوجة الطرفين مع مؤشرين يبلغ طولهما 8 قواعد، تكون المساحة المطلوبة في محرك الحساب هي (151 * 2 + 8 * 2) * 4.3 = 1.37 تيرابايت.

للحصول على معلومات حول مسح مساحة القرص، راجع *حذف عملية التشغيل* في الصفحة 52.

الفصل 2 المجموعات والملحقات

نظرة عامة على المجموعات 9
عناصر مجموعة الكاشف 10
مكونات مجموعة NovaSeq Xp 14
حوض خلية تدفق NovaSeq Xp 14
أوصاف الرموز 15

نظرة عامة على المجموعات

يتطلب إجراء عملية تشغيل على NovaSeq 6000 وجود مجموعة الكاشف NovaSeq 6000. يتطلب سير عمل NovaSeq Xp كذلك استخدام مجموعة NovaSeq Xp. تتوفر هذه المجموعات في عمليات التهيئة التالية.

حدد حجم المجموعة المناسب لتصميم تجربتك. توصي Illumina باستخدام مجموعات 500 دورة لأطوال التشغيل التي تزيد عن 300 دورة فقط.

للحصول على قائمة كاملة بالبنود المطلوبة لإجراء عملية التشغيل، راجع *المستهلكات والمعدات التي يوفرها المستخدم* في الصفحة 23.

الجدول 5 عمليات تهيئة المجموعة

اسم المجموعة	كتالوج Illumina رقم
مجموعة الكاشف NovaSeq 6000 S4 (300 دورة)	20012866
مجموعة الكاشف NovaSeq 6000 S4 (200 دورة)	20027466
مجموعة الكاشف NovaSeq 6000 S2 (300 دورة)	20012860
مجموعة الكاشف NovaSeq 6000 S2 (200 دورة)	20012861
مجموعة الكاشف NovaSeq 6000 S2 (100 دورة)	20012862
مجموعة الكاشف NovaSeq 6000 S1 (300 دورة)	20012863
مجموعة الكاشف NovaSeq 6000 S1 (200 دورة)	20012864
مجموعة الكاشف NovaSeq 6000 S1 (100 دورة)	20012865
مجموعة الكاشف NovaSeq 6000 SP (500 دورة)	20029137
مجموعة الكاشف NovaSeq 6000 SP (300 دورة)	20027465
مجموعة الكاشف NovaSeq 6000 SP (100 دورة)	20027464
مجموعة NovaSeq Xp ذات ممرين	20021664
مجموعة NovaSeq Xp ذات 4 ممرات	20021665

تسمية التوافق

لتحديد مكونات مجموعة متوافقة، تتم تسمية خلايا التدفق والخراطيش بالرموز التي تظهر وضع المجموعة: **SP**، أو **S1**، أو **S2**، أو **S4**. تدعم مشعبات NovaSeq Xp العديد من الأوضاع ويتم تصنيفها إما أنها ذات ممرين (لخلايا التدفق SP، وS1، وS2) وإما أربعة ممرات (لخلايا التدفق S4).

لا يمكن استخدام المكونات التي لها أوضاع مختلفة في عملية التشغيل نفسها. على سبيل المثال، لا تقم بإقران خراطيش S1 مع خلية التدفق S2.

وضع المجموعة	وضع علامة على التسمية	الوصف
مكونات المجموعة SP		تولد خلية التدفق SP ما بين 650 و800 مليون قراءة مفردة تمر من الفلتر بإخراج يصل إلى 250 جيجابايت في 2 × 150 زوجًا قاعديًا وإخراج يصل إلى 400 جيجابايت في 2 × 250 زوجًا قاعديًا.
مكونات المجموعة S1		تولد خلية التدفق S1 ما يصل إلى 1.6 مليار قراءة مفردة تمر من الفلتر بإخراج يصل إلى 500 جيجابايت في 2 × 150 زوجًا قاعديًا. توفر مجموعة S1 تسلسلًا سريعًا لعينات أقل في معظم التطبيقات ذات الإنتاجية العالية.

وضع المجموعة	وضع علامة على التسمية	الوصف
مكونات المجموعة S2	S2	تولّد خلية التدفق S2 ما يصل إلى 4.1 مليار قراءة مفردة تمر من الفلتر بإخراج يصل إلى 1250 جيجابايت في 2 × 150 زوجًا قاعديًا. توفر خلية التدفق S2 تسلسلًا سريعًا لمعظم التطبيقات ذات الإنتاجية العالية، مع عدد أكبر من القراءات من خلية التدفق S1 لمزيد من إخراج التسلسل.
مكونات المجموعة S4	S4	تولّد خلية التدفق S4 ما يصل إلى 10 مليارات قراءة مفردة تمر من الفلتر بإخراج يصل إلى 3000 جيجابايت في 2 × 150 زوجًا قاعديًا. وهي نسخة ذات 4 ممرات من خلية التدفق مُصممة لتحقيق أقصى قدر من الإخراج. كما تمكن تسلسل الجينوم الكامل الفعّال من حيث التكلفة عبر مجموعة من الأنواع وأعماق التغطية.

تقدم صفحة منتج مجموعات الكاشف NovaSeq على موقع شركة Illumina مواصفات تفصيلية لكل وضع.

عناصر مجموعة الكاشف

تحتوي كل مجموعة كاشف NovaSeq 6000 على العناصر التالية. يستخدم كل عنصر نظام تحديد الهوية بموجات الراديو (RFID) لضمان التعقّب الدقيق والتوافق للمستهلكات.

عندما تستلم مجموعتك، خزّن العناصر على الفور في درجة الحرارة المُشار إليها لضمان حدوث أداء مناسب.

الجدول 6 عناصر المجموعة

الكمية	عنصر المجموعة	درجة حرارة التخزين
1	أنبوب المكتبة	من 15 درجة مئوية إلى 30 درجة مئوية
1	خلية التدفق	من 2 درجة مئوية إلى 8 درجات مئوية
1	خرطوشة التخزين المؤقت	من 15 درجة مئوية إلى 30 درجة مئوية
1	خرطوشة العنقود	من -25 إلى -15 درجة مئوية
1	خرطوشة SBS	من -25 إلى -15 درجة مئوية

تنبيه

تجنب إسقاط الخراطيش. قد تتعرّض للإصابة إذا سقطت. قد يحدث تهيج للجلد إذا تسربت الكواشف من الخراطيش. افحص الخراطيش للتأكد من عدم وجود شقوق قبل الاستخدام.

أنبوب المكتبة

أنبوب المكتبة NovaSeq 6000 هو أنبوب بحجم 16 ملم الذي يتناسب مع الموقع رقم 8 من خرطوشة العنقود. يسمى الموقع رقم 8 باسم **أنبوب المكتبة** وتم رسم دائرة برتقالية حوله لسهولة التعرف عليه. يحتوي الأنبوب على غطاء محكم يسمح بتخزين المكتبات عند الضرورة. تأكد من إزالة الغطاء قبل التحميل في خرطوشة العنقود.

الشكل 4 أنبوب المكتبة

يُستخدم أنبوب المكتبة بإحدى طريقتين، حسب سير العمل:

- **قياسي**—تتم إضافة المكتبات المجمّعة والتي تم تعديل خواصها إلى أنبوب المكتبة، والذي بدوره يتم تحميله إلى خرطوشة العنقود بعد إزالة الغطاء منه. بعد بدء عملية التشغيل، يخلط الجهاز المكتبات وكواشف ExAmp في أنبوب المكتبة، ويتم نقلهم تلقائيًا إلى خلية التدفق.
- **NovaSeq Xp**—يتم تحميل أنبوب المكتبة غير المغطى والفارغ في خرطوشة العنقود. أثناء عملية التشغيل، تُخلط الكواشف في أنبوب المكتبة قبل التوزيع في خلية التدفق.

خلية التدفق

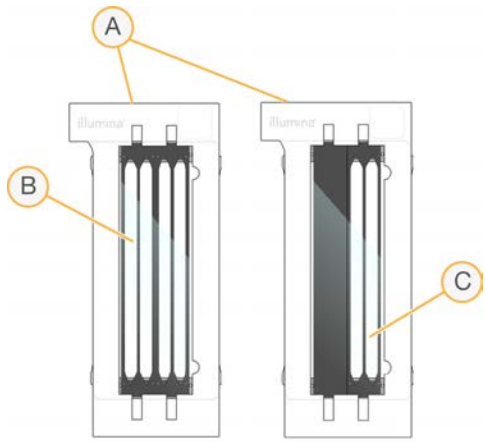
تُمثل خلية تدفق NovaSeq 6000 خلية تدفق نموذجية يتم وضعها في الخرطوشة. تُعد خلية التدفق ركيزة مصنوعة من الزجاج والتي تحتوي على المليارات من مجمعات النانو في ترتيب منظم، مما يؤدي إلى زيادة عدد قراءات الإخراج وبيانات التسلسل. يتم إنشاء العناقيد في مجمعات النانو والتي يتم من خلالها بعد ذلك إجراء التسلسل.

تحتوي كل خلية تدفق على ممرات متعددة لتسلسل المكتبات المجمعة. تحتوي خلايا التدفق SP، وS1، وS2 على ممرين لكل خلية، وتحتوي خلية التدفق S4 على أربعة ممرات. يتم تصوير كل ممر في قطاعات متعددة، ويقوم البرنامج بعد ذلك بتقسيم صورة كل قطاع إلى أجزاء أصغر تسمى الشرائح. لمزيد من المعلومات، انظر *شرائح خلية التدفق* في الصفحة 63.

ملاحظة

إذا كنت تستخدم خلية تدفق S1، فتأكد من استخدام NVCS إصدار 1.3.1، أو الإصدار الأحدث. إذا كنت تستخدم خلية تدفق SP، فتأكد من استخدام NVCS إصدار 1.6، أو الإصدار الأحدث.

الشكل 5 خلايا التدفق



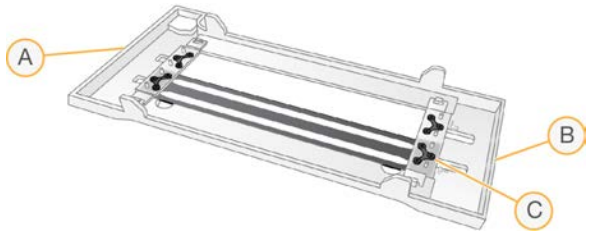
A خرطوشة خلية التدفق
B خلية تدفق ذات أربعة ممرات (S4)
C خلية تدفق ذات ممرين (SP، وS1، وS2)

يحتوي الجانب السفلي من كل خلية تدفق على أربعة موانع تسرب. تدخل المكتبات والكواشف ممرات خلية التدفق عبر موانع التسرب في طرف إدخال خلية التدفق. يتم طرد الكواشف المستخدمة من الممرات من خلال موانع التسرب في طرف الإخراج.

ملاحظة

تجنب لمس موانع التسرب عند التعامل مع خلية التدفق.

الشكل 6 خلية التدفق المعكوسة



A طرف الإخراج
B طرف الإدخال
C مانع تسرب (واحد من أربعة)

خرطوشة التخزين المؤقت، وخرطوشة العنقود وخرطوشة SBS

تحتوي خرطوشة التخزين المؤقت، وخرطوشة العنقود وخرطوشة SBS الخاصة بـ NovaSeq 6000 على خزانات السدادة الرقاقية والتي يتم ملؤها مسبقًا بالكواشف، والتخزين المؤقت، ومحلول الغسيل. يتم إدراج نوع واحد من كل أنواع الخراطيش مع مجموعة الكاشف.

تقوم الخراطيش بالتحميل مباشرةً بالجهاز، ويتم تحديدها باللون وتسميتها لتقليل حدوث أخطاء في التحميل. تضمن الإرشادات في درج مبرد الكاشف ودرج التخزين المؤقت التوجيه السليم.

يتضمن الملصق الخاص بالخرطوشة الأوضاع المدعومة، مثل S1/S2 أو SP/S1/S2. يمكن استخدام الخراطيش للأوضاع المدرجة على الملصق فقط.

الجدول 7 خراطيش الكاشف

خرطوشة	الوصف
خرطوشة التخزين المؤقت الخاصة بـ NovaSeq 6000	مملوءة مسبقًا بالتخزين المؤقت التسلسلي ويصل وزنها إلى 6.8 كجم (15 رطلا). يسهل المقبض البلاستيكي عملية الحمل، والتحميل، والتفريغ. تسمح الفراغات الموجودة في اللوح العلوي بأن تكون الخراطيش مكدسة.
خرطوشة العنقود الخاصة بـ NovaSeq 6000	يتم ملؤها مسبقًا بكواشف ذات نهاية مزدوجة الطرفين، والعناقيد، والمؤشر بالإضافة إلى محلول الغسيل. يتضمن موقعًا مخصصًا لأنبوب المكتبة. تُميّز العلامة البرتقالية بين خرطوشة العنقود وخرطوشة SBS.

خرطوشة	الوصف
خرطوشة SBS الخاصة بـ NovaSeq 6000	مملوءة مسبقًا بكواشف التسلسل في أحجام محددة لعدد الدورات التي تدعمها المجموعة (500، أو 300، أو 200، أو 100). تحتوي كل من مواقع الكاشف الثلاثة على موقع مجاور يتم حفظه لإجراء غسيل تلقائي بعد عملية التشغيل. تُميّز العلامة الرمادية بين خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود.

خزانات خرطوشة العنقود

الخزان القابل للإزالة

يحتوي كاشف تعديل الخواص (التمسخ) في الموقع رقم 30 على مادة الفورماميد، والتي تُعد أحد الأميدات العضوية والسميات التناسلية. هذا الخزان قابل للإزالة من أجل تسهيل التخلص الآمن من أي كاشف غير مستعمل بعد عملية تشغيل التسلسل.

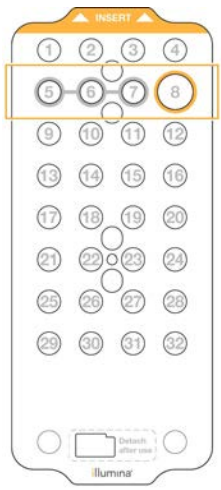
ملاحظة

لا تقم بتكديس خرطوشة SBS فوق خرطوشة العنقود، والتي قد تتسبب في فك الارتباط بالموقع رقم 30.

الخزانات المحفوظة

يتم حفظ ثلاثة خزانات للمشرع المخصص كما يتم حفظ موقع فارغ لأنبوبة المكتبة. ومن أجل التمكن من تتبّع العينة، يتم تحميل أنبوب المكتبة في خرطوشة العنقود أثناء إعداد عملية التشغيل ويبقى مع الخرطوشة حتى نهاية عملية التشغيل.

الشكل 7 الخزانات المرقمة



الموضع	يُحفظ من أجل
5 و6 و7	مشرع مخصص اختياري
8	أنبوب المكتبة

للحصول على المزيد من المعلومات عن المشرع المخصص، راجع *دليل المشرع المخصص لسلسلة NovaSeq* (مستند رقم *1000000022266*).

مكونات مجموعة NovaSeq Xp

كل مجموعة من NovaSeq Xp تستخدم لمرة واحدة وتحتوي على المكونات التالية. عندما تستلم مجموعتك، خزّن العناصر على الفور في درجة الحرارة المُشار إليها لضمان حدوث أداء مناسب.

الجدول 8 مكونات مجموعة NovaSeq Xp

الكمية	عنصر المجموعة	درجة حرارة التخزين
1	DPX1	من -25 إلى -15 درجة مئوية
1	DPX2	من -25 إلى -15 درجة مئوية
1	DPX3	من -25 إلى -15 درجة مئوية
1	مشعب NovaSeq Xp	يُترك مع المجموعة، أو يخزن في درجة حرارة الغرفة.

كواشف DPX1، وDPX2 وDPX3

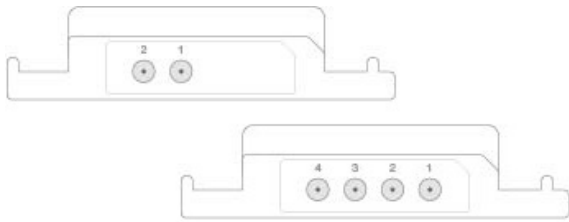
تعد DPX1، وDPX2، وDPX3 كواشف ExAmp تتوفر في أنابيب منفردة لسير عمل NovaSeq Xp. يؤدي دمج هذه الكواشف إلى توليد محلول ExAmp master mix الذي يُخلط بمجموعات المكتبة قبل التحميل في خلية التدفق.

مشعب NovaSeq Xp

يتم وضع مشعب NovaSeq Xp في حوض خلية التدفق NovaSeq Xp لتمكين التحميل المباشر لمجموعات المكتبة في ممرات خلية التدفق الفردية. صممت الأذرع على جانبي مشعب NovaSeq Xp من أجل تسهيل وضعه على الحوض.

تتوفر مشعبات NovaSeq Xp في تكوينات ذات مجمعين وأربعة مجمعات لتتطابق مع خلايا التدفق ذات ممرين وأربعة ممرات. يتوافق كل مجمع مع ممر خلية التدفق. نظرًا لأن خلية التدفق يتم تحميلها في حوض خلية تدفق NovaSeq Xp بحيث تكون مقلوبة رأسًا على عقب، لذا تُرقم المَجمعات من اليمين إلى اليسار لمطابقة ترقيم الممرات لخلية التدفق معكوسة الاتجاه.

الشكل 8 مشعبات NovaSeq Xp ذات مجمعات مُرقمة

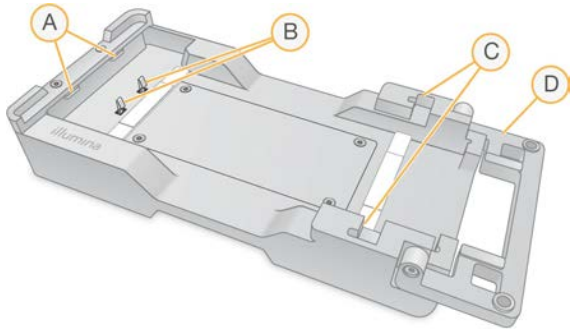


حوض خلية تدفق NovaSeq Xp

يعد حوض خلية تدفق NovaSeq Xp ملحقًا قابلًا لإعادة الاستخدام لتحميل المكتبات مباشرة في خلية التدفق. يتم عكس اتجاه خلية التدفق وتحميلها في الحوض، ويتم تركيب مشعب NovaSeq Xp أعلى خلية التدفق.

جزءان متدليان (أسفل الدعامة) وزنبركان لتوجيه إدخال خلية التدفق وضمان التوجه الصحيح. تحمل القواطع أذرع مشعب NovaSeq Xp في الاتجاه الصحيح، كما أنها مثبّتة باتزان. يدور المشبك المغناطيسي 180 درجة لتثبيت مشعب NovaSeq Xp أعلى خلية التدفق.

الشكل 9 حوض خلية تدفق NovaSeq Xp



A أجزاء متدلية (أسفل الدعامة) لتوجيه التحميل
B زنبركات لمحاذاة خلية التدفق
C قواطع لحمل أذرع مشعب NovaSeq Xp
D مشبك لتثبيت خلية التدفق ومشعب NovaSeq Xp

أوصاف الرموز

يصف الجدول التالي الرموز على المستهلكات أو مواد التغليف للمستهلكات.

الرمز	الوصف
	التاريخ الذي تنتهي خلاله صلاحية المستهلكات. للحصول على أفضل النتائج، استخدم المستهلكات قبل هذا التاريخ.
	يشير إلى جهة التصنيع (Illumina).
	مُخصص للاستخدام البحثي فقط (RUO).
	للإشارة إلى رقم قطع الغيار حتى يُمكن التعرّف على المستهلكات.[1]
	للإشارة إلى رمز الدفعة بغرض تحديد الدفعة أو المجموعة التي تم تصنيع المستهلكات ضمنها.[1]

الرمز	الوصف
	يشير إلى الرقم التسلسلي.
	يشير إلى أنه تلزم الحماية من الضوء أو الحرارة. يخزن بعيدًا عن أشعة الشمس.
	للإشارة إلى الخطر الصحي الذي قد ينجم عنها.
	يشير إلى الإنذار بالمخاطر.
	يكون نطاق درجة حرارة التخزين بالدرجات المئوية. قم بتخزين المستهلكات ضمن النطاق المُشار إليه.[2]

[1] يُشير REF إلى العنصر الفردي، بينما يُشير LOT إلى الدفعة أو المجموعة التي ينتمي إليها العنصر.

[2] قد تختلف درجة الحرارة المستخدمة في التخزين عن درجة الحرارة المستخدمة في الشحن.

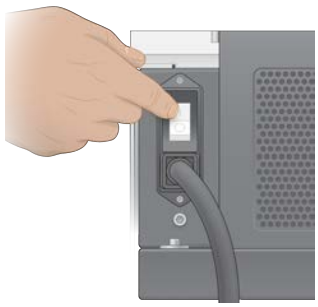
الفصل 3 بدء الاستخدام

بدء تشغيل الجهاز **17**
إعدادات التهيئة **18**
المستهلكات والمعدات التي يوفرها المستخدم **23**

بدء تشغيل الجهاز

1 قم بتبديل مفتاح الفصل الكهربائي الموجود في الجزء الخلفي من الجهاز إلى | وضع (تشغيل).

الشكل 10 موقع مفتاح التشغيل



2 انتظر حتى يضيء زر التشغيل الموجود بالجانب الأيمن للجهاز إلى اللون الأزرق، ثم اضغط عليه.

الشكل 11 موقع زر التشغيل

حسابات المستخدم

في الإصدار 1.5 من برنامج تحكم NovaSeq (NVCS)، هناك نوعان من الحسابات: المسؤول والمستخدم. ويعرض الجدول التالي الأذونات الخاصة بكل نوع منها.

الأذونات	المسؤول	المستخدم
إعداد، بدء، مراقبة تشغيل التسلسل	X	X
تنزيل البرنامج وتحديثه	X	
مراجعة حالة التشغيل النشط التي بدأها مستخدم آخر	X	
إنهاء العملية الخاصة بخدمة النسخ العالمية (UCS) غير المستجيبة	X	

يتم تخزين ملفات بيانات التطبيقات في C:/ProgramData. يتم تثبيت التطبيقات في C:/Program Files. يتم تشغيل برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) كتطبيق بملء الشاشة لكل من نوعي الحسابات.

المستند رقم 1000000019358 إصدار 11 ARA المادة رقم 20023471
للاستخدام البحثي فقط. لا يستخدم في الإجراءات التشخيصية.

تسجيل الدخول إلى النظام

1 عندما يتم تحميل نظام التشغيل، قم بتسجيل الدخول إلى Windows باستخدام اسم المستخدم وكلمة المرور لموقعك.

2 افتح برنامج تحكم NovaSeq (NVCS).
يتم تشغيل البرنامج وتهيئة النظام. تظهر Home screen (الشاشة الرئيسية) عند اكتمال عملية التهيئة.

يتم تشغيل برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) كأحد تطبيقات المستخدم. إذا حاولت استخدام ميزة تتطلب أذونات المسؤول، مثل تحديث البرامج، ولم تقم بتسجيل الدخول كمسؤول، فستتم مطالبتك بتسجيل الدخول كمسؤول.

وللبقاء على اطلاع بالتقدم الذي يجري في تشغيل التسلسل، ابقَ في وضع تسجيل الدخول أثناء تشغيل برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) وعندما يكون تشغيل التسلسل قيد التقدم.

إعدادات التهيئة

يتضمن برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) إعدادات لما يلي:

- وضع التشغيل (يدوي أو مستند إلى ملف)
- سير عمل NovaSeq Xp
- مركز التسلسل BaseSpace
- تحديثات البرنامج

ملاحظة

قبل تهيئة Workflow Selection (تحديد سير العمل) أو Automatic Checks (عمليات التحقق التلقائي) الخاصة بـ Software Updates (تحديثات البرنامج)، تأكد من تهيئة Mode Selection (تحديد الوضع).

أوضاع إعداد التشغيل

- **Manual (يدوي)**—الوضع الافتراضي الذي يرسل البيانات إلى مجلد إخراج محدد للتحليل فيما بعد.
- **File-Based (مستند إلى ملف)**—وضع بديل يستخدم الملفات من نظام إدارة المعلومات المختبرية BaseSpace Clarity LIMS أو من نظام إدارة معلومات مختبرية LIMS آخر لتحديد معلمات التشغيل. لمزيد من المعلومات، راجع *تهيئة إخراج نظام إدارة المعلومات المختبرية LIMS* في الصفحة 19.

عند تهيئة وضع إعداد التشغيل، تأكد من تحديد موقع موجود لمجلد إعداد التشغيل. يلزم وجود هذا المجلد، وتشير رسالة الموقع غير الصحيح إلى أن الموقع المحدد غير موجود.

يحتوي وضعا إعداد عملية التشغيل على خيار إرسال البيانات إلى مركز تسلسل BaseSpace من أجل التحليل.

تهيئة الوضع اليدوي

1 من Main Menu (القائمة الرئيسية)، حدد **Settings (الإعدادات)**.
تفتح شاشة Settings (الإعدادات) لعلامة التبويب Mode Selection (تحديد الوضع).

2 حدد **Manual (يدوي)**.

3 **[اختياري]** أدخل موقع الشبكة المفضل الخاص بمجلد الإخراج أو تصفحه.
لا تقم بتحديد موقع على محركات الأقراص C:\، أو D:\ أو Z:\. يؤدي القيام بذلك إلى حدوث خطأ أن محرك الأقراص غير صالح.
هذا الإعداد هو الموقع الافتراضي. يمكن تغيير موقع مجلد الإخراج على أساس كل عملية تشغيل.

4 **[اختياري]** حدد **Send Instrument Performance Data to Illumina (إرسال بيانات أداء الجهاز إلى Illumina)** لتمكين خدمة المراقبة الاستباقية لدى Illumina. قد يكون اسم الإعداد في واجهة البرنامج مختلفًا عن الاسم في هذا الدليل حسب إصدار برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) قيد الاستخدام.
عند تشغيل هذا الإعداد، يتم إرسال بيانات أداء الجهاز إلى Illumina. تساعد هذه البيانات شركة Illumina على استكشاف الأخطاء وإصلاحها بسهولة أكبر وكشف حالات الفشل المحتملة، مما يتيح إجراء صيانة مسبقة وزيادة وقت تشغيل الجهاز إلى الحد الأقصى. لمزيد من المعلومات حول مزايا هذه الخدمة، راجع *المذكرة التقنية الاستباقية من Illumina (المستند رقم 1000000052503)*.

هذه الخدمة:
- لا ترسل بيانات التسلسل
- تتطلّب توصيل الجهاز بشبكة يمكن من خلالها الوصول إلى الإنترنت
- يتم تشغيلها افتراضيًا. لإلغاء الاشتراك في هذه الخدمة، قم بتعطيل إعداد **Send Instrument Performance Data to Illumina (إرسال بيانات أداء الجهاز إلى Illumina)**.

5 حدد **Save (حفظ)**.

تهيئة الوضع المستند إلى الملف

1 من Main Menu (القائمة الرئيسية)، حدد **Settings (الإعدادات)**.
تفتح شاشة Settings (الإعدادات) لعلامة التبويب Mode Selection (تحديد الوضع).

2 حدد **File-Based (مستند إلى ملف)**.

3 أدخل موقع الشبكة المفضل الخاص بمجلد إعداد التشغيل أو تصفّحه، والذي يحتوي على ملفات نظام إدارة المعلومات المختبرية LIMS.
تأكد من أنه قد تمت إضافة ملفات نظام إدارة المعلومات المختبرية LIMS المناسبة إلى مجلد إعداد التشغيل قبل إعداد التشغيل. أثناء إعداد عملية التشغيل، يستخدم البرنامج معرف أنبوب المكتبة أو معرف خلية التدفق لتحديد موقع الملفات للتشغيل الحالي.

4 **[اختياري]** أدخل موقع الشبكة المفضل الخاص بمجلد الإخراج أو تصفّحه.
لا تقم بتحديد موقع على محركات الأقراص C:\، أو D:\ أو Z:\. يؤدي القيام بذلك إلى حدوث خطأ أن محرك الأقراص غير صالح.
يمكن تغيير موقع مجلد الإخراج على أساس كل عملية تشغيل.

5 **[اختياري]** حدد **Send Instrument Performance Data to Illumina (إرسال بيانات أداء الجهاز إلى Illumina)** لتمكين خدمة المراقبة الاستباقية لدى Illumina. قد يكون اسم الإعداد في واجهة البرنامج مختلفًا عن الاسم في هذا الدليل حسب إصدار برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) قيد الاستخدام.
عند تشغيل هذا الإعداد، يتم إرسال بيانات أداء الجهاز إلى Illumina. تساعد هذه البيانات شركة Illumina على استكشاف الأخطاء وإصلاحها بسهولة أكبر وكشف حالات الفشل المحتملة، مما يتيح إجراء صيانة مسبقة وزيادة وقت تشغيل الجهاز إلى الحد الأقصى. لمزيد من المعلومات حول مزايا هذه الخدمة، راجع *المذكرة التقنية الاستباقية من Illumina (المستند رقم 1000000052503)*.
هذه الخدمة:
- لا ترسل بيانات التسلسل
- تتطلّب توصيل الجهاز بشبكة يمكن من خلالها الوصول إلى الإنترنت
- يتم تشغيلها افتراضيًا. لإلغاء الاشتراك في هذه الخدمة، قم بتعطيل إعداد **Send Instrument Performance Data to Illumina (إرسال بيانات أداء الجهاز إلى Illumina)**.

يتطلب هذا الخيار وجود اتصال إنترنت خارجي وذلك عندما يتم تمكينه.

6 حدد **Save (حفظ)**.

تهيئة إخراج نظام إدارة المعلومات المختبرية LIMS

إذا تمت تهيئة نظامك للوضع المستند إلى الملف وكنت تستخدم برنامج نظام إدارة المعلومات المختبرية LIMS بخلاف نظام إدارة المعلومات المختبرية BaseSpace Clarity LIMS، فقم بتهيئة نظام إدارة المعلومات المختبرية LIMS لإنشاء ملف إعداد تشغيل بتنسيق json*. بالنسبة لسير العمل القياسي، يجب أن يتطابق اسم الملف مع معرف أنبوب المكتبة. يمكن ترك حقل معرف خلية التدفق فارغًا. بالنسبة لسير عمل NovaSeq Xp، يجب أن يتطابق اسم الملف مع معرّف خلية التدفق، ويجب تحديد معرّف خلية التدفق ومعرّف المكتبة في الملف. اسم الملف والقيم ليست حساسة لحالة الأحرف.

يمكن لبرنامج نظام إدارة معلومات مختبرية LIMS خارجي استخدام واجهة برمجة تطبيقات نظام إدارة المعلومات المختبرية NovaSeq LIMS للتفاعل مع NovaSeq 6000. اتصل بالدعم الفني لشركة Illumina للحصول على مزيد من المعلومات بشأن نقاط نهاية واجهة برمجة التطبيقات API.

اسم الحقل	القيمة
run_name	اسم التشغيل المفضل، والذي يمكن أن يحتوي على أحرف أبجدية رقمية، وعلامات وصل، وشرط سفلية
run_mode	أحد الأوضاع التالية: • SP • S1 • S2 • S4
workflow_type	NoIndex، أو SingleIndex، أو DualIndex
librarytube_ID	تحديد الهوية بموجات الراديو (RFID) الخاصة بأنبوب المكتبة
rehyb*	صحيح أو خاطئ
sample_loading_type	NovaSeqStandard أو NovaSeqXp
Flowcell_ID	معرف خلية التدفق
paired_end	صحيح أو خاطئ
read1	قيمة تصل إلى 251
read2	قيمة تصل إلى 251
index_read1	أي قيمة
index_read2	أي قيمة
output_folder	المسار إلى مجلد الإخراج الذي يحتوي على اثنتين من الشرطات المائلة العكسية لتسلسل الهروب
samplesheet	المسار إلى ورقة عينة أو ملف بتنسيق csv.* والذي يحتوي على اثنتين من الشرطات المائلة العكسية لتسلسل الهروب
use_basespace	صحيح أو خاطئ
basespace_mode	RunMonitoringOnly أو RunMonitoringAndStorage
use_custom_read1_primer	صحيح أو خاطئ
use_custom_read2_primer	صحيح أو خاطئ
use_custom_index_read1_primer	صحيح أو خاطئ

* لا تتوفر إعادة التهجين في برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) إصدار 1.4.0، أو الإصدارات الأحدث.

مثال: تسمية ملف *.json بـ H6655DMXX.json:

```
}
 run_name": "2x151_PhiX"، "
          "run_mode": "S2"،
      "workflow_type": "NoIndex"،
   "sample_loading_type": "NovaSeqXp"،
"librarytube_ID": "NV1236655-LIB"، "flowcell_ID": "H6655DMXX"،
                    "rehyb": "خطأ"،
                  "paired_end": "صحيح"،
                       "read1": 151، "
                        "read2": 151،
                     "index_read1": 0،
                     "index_read2": 0،
  "output_folder": "\\\\sgnt-prd-isi01\\NovaSEQ\\SeqRuns"،
"attachment": "\\\\sgnt-prd-isi01\\NVSQ\\SampleSheet.csv"،
                    "use_basespace": "خطأ"،
                  "basespace_mode": "لا شيء"،
               "use_custom_read1_primer": "خطأ"،
               "use_custom_read2_primer": "خطأ"،
```

```
"use_custom_index_read1_primer": خطأ
{
```

تهيئة Default Index Cycles (دورات المؤشر الافتراضية)

يمكنك تهيئة العدد الافتراضي لدورات المؤشر لسير العمل القياسي كما يلي.

1 من Main Menu (القائمة الرئيسية)، حدد **Settings (الإعدادات)**.
تفتح شاشة Settings (الإعدادات) لعلامة التبويب Mode Selection (تحديد الوضع).

2 حدد علامة التبويب **Workflow Selection (تحديد سير العمل)** .

3 أدخل الرقم الافتراضي لدورات المؤشر في مربع النص **Index Cycles (دورات المؤشر)**.

4 حدد **Save (حفظ)**.

عمليات سير عمل NovaSeq Standard القياسي وNovaSeq Xp

تستخدم عمليات سير عمل كلٍ من NovaSeq Standard القياسي وNovaSeq Xp كيمياء ExAmp التي تملكها شركة Illumina.

◀ سير العمل القياسي

يقوم سير عمل NovaSeq Standard القياسي بالتشغيل الآلي لخطوتين مهمتين خاصتين بكيمياء عناقيد ExAmp التي تملكها شركة Illumina على الجهاز.

- ◀ تحضير محلول ExAmp Master Mix
- ◀ نقل محلول Master Mix إلى خلية التدفق

يقلل تحضير محلول Master Mix ونقله على الجهاز من تدخل المستخدم ويقلل من تباين الخليط الذي تم تحضيره.

كجزء من إعداد عملية تشغيل سير العمل القياسي، يتم إدخال أنبوب المكتبة الذي يحتوي على مجموعة مكتبة تم تعديل خواصها وتحيدها عند التركيز الموصى به في الموضع رقم 8 لخرطوشة العنقود. بعد بدء التشغيل، تحدث الخطوات التالية في الجهاز ولا تتطلب أي تدخل من قبل المستخدم. ويشمل ذلك نقل كواشف ExAmp من خرطوشة العنقود إلى أنبوب المكتبة، وتحضير الكواشف، وخليط مجموعة المكتبة، ونقل الخليط الذي تم تحضيره إلى جميع ممرات خلية التدفق.

بعد حدوث العنقدة بالجهاز، يتم تنفيذ سلسلة من الخطوات المشتركة لكلتا عمليتي سير العمل. تتضمن هذه الخطوات استخدام خليط التبريد لخلية التدفق التي تم تعنقدها واتباع خطوات كيميائية إضافية لتحضير عناقيد التسلسل من خلال التوليف. يتم تحضير خليط التبريد أثناء عملية العنقدة باستخدام الكواشف الموجودة في خرطوشة العنقود وأنبوب المكتبة التي يتم إدخالها أثناء إعداد عملية التشغيل. يساعد خليط التبريد على تعزيز كفاءة العنقدة في جهاز NovaSeq.

◀ سير عمل NovaSeq Xp

يمكّن سير عمل NovaSeq Xp من تحميل مكتبات أو مجموعة مكتبات مختلفة في الممرات الفردية لخلية تدفق NovaSeq باستخدام حوض خلية تدفق NovaSeq Xp وإحدى مجموعات المستهلكات الخاصة بخلية التدفق المحددة (مجموعة NovaSeq Xp ذات ممرين أو مجموعة NovaSeq Xp ذات 4 ممرات). تحتوي مجموعة NovaSeq Xp على كواشف ExAmp اللازمة في عملية العنقدة ومشعب NovaSeq Xp اللازم لتحميل الممر.

يتم تحضير خليط ExAmp/المكتبة وتحميله في ممرات فردية لخلية التدفق باستخدام حوض خلية تدفق NovaSeq Xp ومشعب NovaSeq Xp. يمكن استخدام معالج آلي للسائل لتحضير خليط ExAmp/المكتبة ونقله إلى المشعب للتعبئة الذاتية بخلية التدفق. عند الانتهاء من تحميل عينة خلية التدفق، يتم إدخال أنبوب مكتبة فارغ في الموقع رقم 8 من خرطوشة العنقود، ويتم وضع خلية التدفق في الجهاز، ويبدأ تشغيل عملية التسلسل.

بعد بدء عملية التشغيل، يتم تنفيذ سلسلة من الخطوات المشتركة لكلتا عمليتي سير العمل. تتضمن هذه الخطوات استخدام خليط التبريد لخلية التدفق التي تم تعنقدها واتباع خطوات كيميائية إضافية لتحضير عناقيد التسلسل من خلال التوليف. يتم تحضير خليط التبريد أثناء عملية العنقدة باستخدام الكواشف الموجودة في خرطوشة العنقود ويُخلط في أنبوب المكتبة الفارغة التي يتم إدخالها أثناء إعداد عملية التشغيل. يساعد خليط التبريد على تعزيز كفاءة العنقدة في جهاز NovaSeq.

تهيئة سير عمل NovaSeq Xp

1 من Main Menu (القائمة الرئيسية)، حدد **Settings (الإعدادات)**.
تفتح شاشة Settings (الإعدادات) لعلامة التبويب Mode Selection (تحديد الوضع).

2 حدد علامة التبويب **Workflow Selection (تحديد سير العمل)** .

3 لتمكين سير عمل NovaSeq Xp، حدد **Enable Workflow Selection (تمكين تحديد سير العمل)**.

4 [اختياري] لجعل NovaSeq Xp سير العمل الافتراضي، حدد **NovaSeq Xp**.

5 حدد **Save (حفظ)**.

تهيئة مركز تسلسل BaseSpace

اتبع التعليمات التالية لتهيئة الإعدادات الافتراضية الخاصة بمركز تسلسل BaseSpace. أثناء إعداد التشغيل، يمكنك تعطيل مركز تسلسل BaseSpace الخاص بالتشغيل الحالي أو تغيير الإعدادات لمراقبة التشغيل والتخزين. يتطلب الاتصال بمركز تسلسل BaseSpace وجود اتصال بالإنترنت.

1 من Main Menu (القائمة الرئيسية)، حدد **Settings (الإعدادات)**.
تفتح شاشة Settings (الإعدادات) لعلامة التبويب Mode Selection (تحديد الوضع).

2 حدد خانة اختيار **BaseSpace Sequence Hub (مركز تسلسل BaseSpace)**.

3 حدد خيار التهيئة:

- **Run Monitoring and Storage (مراقبة التشغيل والتخزين)**—لإرسال بيانات التشغيل إلى مركز تسلسل BaseSpace لإجراء مراقبة عن بعد وتحليل البيانات. يتطلب هذا الخيار تحميل ورقة العينة عند التشغيل.
- **Run Monitoring Only (مراقبة التشغيل فقط)**—لإرسال InterOp، والسجل، وملفات تشغيل أخرى غير CBCL إلى مركز تسلسل BaseSpace بحيث يمكن مراقبة التشغيل عن بعد.

4 من القائمة المنسدلة لـ Hosting Location (موقع الاستضافة)، حدد **EU (Frankfurt) (الاتحاد الأوربي (فرانكفورت))** أو **USA (N. Virginia) (الولايات المتحدة الأمريكية (شمال فرجينيا))**.
يحدد هذا الخيار المكان الذي يتم تحميل البيانات إليه.

5 إذا كنت شريكًا في مؤسسة BaseSpace:

a حدد خانة اختيار **Private Domain (المجال الخاص)**.
b أدخل المجال المعين المستخدم لتسجيل دخول واحد لمركز تسلسل BaseSpace.

6 حدد **Save (حفظ)**.

اسم ورقة العينة

عند تشغيل برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) الإصدار 1.3.1 أو الإصدار الأقدم، تجب تسمية ورقة العينة SampleSheet.csv والتي تستخدم لتشغيل NovaSeq 6000 والتي تم تحميلها في مركز التسلسل BaseSpace (حساسة لحالة الأحرف). إذا تمت تسمية ورقة العينة بشكل غير صحيح وتم تمكين مراقبة التشغيل والتخزين، يقوم مركز تسلسل BaseSpace بوضع علامة على التشغيل لجلب الانتباه. يمكن أن يتم وضع عملية التشغيل التي تم وضع علامة عليها في قائمة الانتظار لإنشاء FASTQ عن طريق تحديد **More (المزيد)** | **Fix Sample Sheet and Requeue (إصلاح ورقة العينة وإعادة الوضع في قائمة الانتظار)** ثم إدخال ورقة العينة المناسبة. حتى يتم توفير ورقة العينة، لا يمكن تحويل بيانات التسلسل إلى ملفات FASTQ.

إذا كنت تستخدم NVCS الإصدار 1.4 أو الإصدار الأحدث، فلا توجد أي قيود على أسماء ورقة العينة.

إذا كنت تستخدم برنامج تحويل bcl2fastq2 إصدار 2.19 أو الأحدث، وذلك من أجل تحويل البيانات إلى ملفات FASTQ محليًا، يمكنك استخدام خيار سطر الأوامر --sample-sheet لتحديد أي ملف CSV في أي موقع. يسمح سطر الأوامر باستخدام أي اسم ملف.

تهيئة تحديثات البرنامج

يتم تمكين التحقق التلقائي من تحديثات البرنامج افتراضيًا. يمكنك تعطيل التحقق التلقائي للتحديثات أو تمكينه من Settings (الإعدادات).

1 من Main Menu (القائمة الرئيسية)، حدد **Settings (الإعدادات)**.

2 اختر **Software Update (تحديث البرنامج)**.

3 حدد خانة الاختيار **If enabled, the instrument will display a notification when a Software Update is available (إذا تم تمكينه، فسيعرض الجهاز إشعارًا عند توفر تحديث للبرنامج)**.

4 حدد **Save (حفظ)**.

المستهلكات والمعدات التي يوفرها المستخدم

يتم استخدام المستهلكات والمعدات التالية التي يوفرها المستخدم من أجل إعداد المستهلك، والتسلسل، وصيانة النظام.

المواد المستهلكة

المادة المستهلكة	المورد	الغرض
هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 N	مورد المختبر العام	تخفيف إلى 0.2 N لتغيير خواص المكتبات.
10 ملي مول من Tris-HCl، بالقوة الهيدروجينية 8.5	مورد المختبر العام	تخفيف المكتبات وPhiX control الاختياري قبل تغيير خواصها (التمسخ).
400 ملي مول من Tris-HCl، بالقوة الهيدروجينية 8.0	مورد المختبر العام	تحييد المكتبات ووحدة التحكم PhiX الاختيارية بعد تعديل الخواص (التمسخ).
زجاجة الطرد المركزي، 500 مل	مورد المختبر العام	تخفيف Tween 20 من أجل غسيل الصيانة.
أنبوب الطرد المركزي، 30 مل	مورد المختبر العام	تخفيف هيبوكلوريت الصوديوم (NaOCl) من أجل غسيل الصيانة.
القفازات الخالية من المساحيق والقابلة للاستعمال مرة واحدة	مورد المختبر العام	الغرض العام.
مناديل آيزوبروبيل الكحولية، 70% أو مناديل إيثانول الكحولية، 70%	VWR، كتالوج رقم 95041-714، أو ما يعادله مورد المختبر العام	تنظيف المكونات قبل التشغيل والغرض العام.
منديل المختبر، قليل الوبر	VWR، كتالوج رقم 21905-026، أو ما يعادله	تجفيف منصة خلية التدفق والغرض العام.
أنبوب طرد مركزي صغير الحجم، 1.5 مل	VWR، كتالوج رقم 20170-038، أو ما يعادله	تجميع الأحجام عند تخفيف هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) والمكتبة.
هيبوكلوريت الصوديوم (NaOCl)، 5%	Sigma-Aldrich, كتالوج رقم 239305	إجراء غسيل صيانة.
مجموعة الكاشف NovaSeq 6000	Illumina، راجع *نظرة عامة على المجموعات* في الصفحة 9 للحصول على أرقام الكتالوج	إجراء تشغيل التسلسل.
رؤوس الماصة 20 ميكروليتر	مورد المختبر العام	استخدام الماصات لتخفيف المكتبات وتحميلها.
رؤوس الماصة 200 ميكرولتر	مورد المختبر العام	استخدام الماصات لتخفيف المكتبات وتحميلها.
رؤوس الماصة 1000 ميكرولتر	مورد المختبر العام	استخدام الماصات لتخفيف المكتبات وتحميلها.
الكاشف أو كحول الآيزوبروبيل ذو الدرجة الطيفية (99%)، زجاجة 100 مل	مورد المختبر العام	تنظيف مكونات العدسات بشكل دوري ودعم خرطوشة تنظيف العدسة الشيئية.
Tween 20	Sigma-Aldrich، كتالوج رقم P7949	إجراء غسيل صيانة.
ماء، عالي الجودة وفقًا لمعايير المختبرات	مورد المختبر العام	تخفيف هيدروكسيد الصوديوم لتعديل خواص المكتبات. تخفيف Tween 20 وهيبوكلوريت الصوديوم من أجل غسيل الصيانة.

المادة المستهلكة	المورد	الغرض
[سير عمل NovaSeq Xp] أحد المجموعات التالية: • مجموعة NovaSeq Xp ذات ممرين • مجموعة NovaSeq Xp ذات 4 ممرات	Illumina: • كتالوج رقم 20021664 • كتالوج رقم 20021665	تحميل المكتبات يدويًا في خلية التدفق: • مجموعة ذات ممرين لخلايا التدفق SP، وS1، وS2 • مجموعة ذات أربعة ممرات لخلايا التدفق S4
[سير عمل NovaSeq Xp] أنابيب 0.5 مللي و1.7 مللي	مورد المختبر العام	مطلوب من أجل خلط ExAmp.
[سير عمل NovaSeq Xp] [اختياري] أحد حزم المشعب التالية: • حزمة مشعب NovaSeq Xp ذات ممرين • حزمة مشعب NovaSeq Xp ذات أربعة ممرات	Illumina: • كتالوج رقم 20021666 • كتالوج رقم 20021667	مشعبات NovaSeq Xp احتياطية لتحميل المكتبات يدويًا في خلية التدفق.
[اختياري] PhiX Control v3	Illumina، كتالوج رقم FC-110-3001	زيادة في PhiX control.

المستهلكات في مجموعات Illumina

يلزم وجود مجموعة الكاشف NovaSeq 6000 لإجراء تسلسل لخلية تدفق واحدة. تتكون كل مجموعة من مستهلكات متعددة، وهي مدرجة في الجدول التالي. لتشغيل خلية تدفق مزدوجة، استخدم مجموعتين.

الجدول 9 المستهلكات في مجموعة الكاشف NovaSeq 6000

المستهلك (واحد من كل نوع)	الغرض
خرطوشة التخزين المؤقت	توفر التخزين المؤقت التسلسلي لعملية التشغيل.
خرطوشة العنقود	توفر العنقدة، والفهرسة، وكواشف ذات نهاية مزدوجة الطرفين لعملية التشغيل.
خلية التدفق	يحدث تفاعل العنقدة والتسلسل في خلية التدفق.
خرطوشة SBS	توفر كواشف التسلسل لعملية التشغيل.
أنبوب المكتبة	يستخدم الأنبوب الفارغ لحمل المكتبات المجمعة والتي تم تعديل خواصها (يوفرها العميل) أو لتحضير خليط التبريد لتعزيز كفاءة التعنقد لإجراء التسلسل.

إذا كنت تتبع سير عمل NovaSeq Xp لتحميل المكتبات مباشرة في خلية التدفق، فقم بتكملة كل مجموعة من الكواشف بمجموعة NovaSeq Xp واحدة. تتكون كل مجموعة NovaSeq Xp من المستهلكات التالية.

الجدول 10 المستهلكات في مجموعة NovaSeq Xp

المستهلك (واحد من كل نوع)	الغرض
DPX1	تحضير محلول ExAmp Master Mix.
DPX2	
DPX3	
مشعب NovaSeq Xp	تحميل المكتبات في خلية التدفق.

إرشادات استخدام الماء عالي الجودة وفقًا لمعايير المختبرات

استخدم دائمًا الماء عالي الجودة وفقًا لمعايير المختبرات أو ماء منزوع الأيونات لتنفيذ إجراءات الجهاز. لا تستخدم ماء الصنبور أبدًا. استخدم فقط الفئات التالية من المياه أو ما يعادلها:

- ماء منزوع الأيونات
- ماء Illumina PW1
- ماء بمقاومة 18 ميجا أوم (MΩ)
- ماء عالي النقاء (Milli-Q)
- ماء فائق النقاء (Super-Q)
- الماء الجزيئي وفقًا لمعايير علم الأحياء

المعدات

عنصر	مصدر
حجرة التجميد، من -25 درجة مئوية إلى -15 درجة مئوية	مورد المختبر العام
أسطوانة متدرجة 500 مللي، معقمة	مورد المختبر العام
دلو ثلج	مورد المختبر العام
ماصة، 20 ميكرولتر	مورد المختبر العام
ماصة، 200 ميكرولتر	مورد المختبر العام
ماصة، 1000 ميكرولتر	مورد المختبر العام
ثلاجة، من 2 درجة مئوية إلى 8 درجات مئوية	مورد المختبر العام
الحوض، حمامات المياه*	مورد المختبر العام
[NovaSeq Xp workflow] حوض خلية تدفق NovaSeq Xp	Illumina، كتالوج رقم 20021663

* استخدم حوضًا يمكنه استيعاب اثنتين من خراطيش الكاشف ومستوى المياه المناسب. على سبيل المثال (61 سم × 91.4 سم × 25.4 سم)(24 بوصة × 36 بوصة × 10 بوصات).

الفصل 4 سير العمل القياسي: إعداد المستَهلكات

الطرق **26**
إرشادات المكتبة **26**
إذابة خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود **26**
إفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة **27**
تحضير خلية التدفق **28**
تجميع خواص المكتبات وتعديلها للتسلسل **29**

الطرق

قبل بدء تحضير العينات أو المستَهلكات، تأكد من أن إصدار برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) يُلبي الحد الأدنى من متطلبات البرامج المدرجة في الجدول التالي.

الجدول 11 الحد الأدنى لمتطلبات البرامج

خلية التدفق	الحد الأدنى من إصدار البرنامج
SP	1.6
S1	1.3.1
S2	الكل
S4	1.2.0

- تأكد من حصولك على المستهلكات والمعدات اللازمة. راجع *المستهلكات والمعدات التي يوفرها المستخدم* في الصفحة 23.
- تحقق دومًا من الملصق عندما تُحضر المستهلكات لضمان التوافق بين المكونات. لا تخلط مكونات SP، وS1، وS2، وS4 وتطابقها.
- اتبع التعليمات حسب الترتيب الظاهر باستخدام الأحجام، والتركيزات، ودرجات الحرارة والمُدد الزمنية المحددة.
- إذا لم تظهر نقطة توقف محددة في التعليمات، فتابع الخطوة التالية مباشرةً.

إرشادات المكتبة

تنطبق جميع التعليمات على طرق تحضير المكتبة المدعومة وتفترض حجم إدخال مثاليًا لتطبيقات NovaSeq 6000 المدعومة.

- للحصول على أفضل النتائج، قم بتجميع المكتبات وتعديل خواصها الطبيعية لإجراء تسلسل فوري.
- قم بتخفيف المكتبة إلى تركيز التحميل المناسب للتطبيق. يؤثر تركيز التحميل المنخفض للغاية أو المرتفع للغاية سلبًا على نسبة العناقيد التي تمر من الفلتر (PF%). يتسبب تركيز المكتبة المنخفض في زيادة تكرار التسلسل. يخفض تركيز المكتبة المرتفع للغاية من نسبة المرور من الفلتر PF%.
- يتطلب تحقيق أمثل نسبة للمرور من الفلتر PF% قياسًا كميًا دقيقًا للمكتبة ومراقبة جودة ملائمة. للحصول على التوصيات، انظر الوثائق الخاصة بمجموعة إعداد مكتبتك.

إذابة خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود

1. إذا كانت هناك عملية تسلسل قيد التشغيل، فتأكد من أن كلا جانبي الجهاز متاحان عند اكتمال الذوبان.
2. قم بإزالة خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود من التخزين في درجة حرارة من -25 درجة مئوية إلى -15 درجة مئوية.

3 ضع كل خرطوشة داخل رف الذوبان السلكي.
يتم توفير الرفوف مع الجهاز ويمنع الانقلاب في حمام الماء.

الشكل 12 الخراطيش في رفوف الذوبان السلكية

4 قم بالإذابة في حمام مياه في درجة حرارة الغرفة (من 19 درجة مئوية إلى 25 درجة مئوية).
قم بالغمر إلى النصف تقريبًا.

5 استخدم الجدول التالي لتحديد مدة الذوبان.

تنبيه
قد يؤدي استخدام الماء الساخن في إذابة الكواشف إلى تقليل جودة البيانات أو فشل عملية التشغيل.

خرطوشة	مدة الذوبان
خرطوشة SP، وS1، وS2 SBS	4 ساعات
خرطوشة العنقود SP، وS1، وS2	يصل إلى ساعتين
خرطوشة S4 SBS	4 ساعات
خرطوشة العنقود S4	يصل إلى 4 ساعة

6 جفف قواعد الخرطوشة تمامًا باستخدام المناشف الورقية. جفف ما بين المَجمعات حتى تتم إزالة المياه بالكامل.

7 افحص السدادات الرقاقية للتأكد من وجود مياه. في حالة وجود مياه، نظّف باستخدام منديل خالٍ من الوبر للتجفيف

8 افحص الجانب السفلي لكل خرطوشة للتأكد أن الخزانات خالية من الثلج، مما يشير إلى أنه تتم إذابة الكواشف.

9 اقلب كل خرطوشة 10 مرات لخلط الكواشف.

10 اضغط بلطف على الجزء السفلي من كل خرطوشة على القاعدة لتقليل فقاعات الهواء.

11 إذا تعذر تحميل الكواشف على الجهاز في غضون 4 ساعات، فقم بالتخزين في درجات حرارة من 2 درجة مئوية إلى 8 درجات مئوية لمدة تصل إلى 24 ساعة.

إفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة

اتبع التعليمات التالية لإفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة مع **كل** عملية تشغيل للتسلسل. إذا تمت تهيئة نظامك لتوجيه الكواشف المستخدمة خارجيًا، فإن الزجاجة الصغيرة تجمع الكواشف المستخدمة ويجب تفريغها بعد كل عملية تشغيل للتسلسل. يجب أن تكون الزجاجة الكبيرة في مكانها.

تحذير
تحتوي هذه المجموعة من الكواشف على مواد كيميائية يُحتمل أن تكون خطرة. يمكن أن تحدث الإصابة الشخصية عن طريق استنشاق تلك المواد، وابتلاعها وملامستها للجلد والعين. ارتدِ معدات الحماية، بما في ذلك واقي العين، والقفازات، ومعطف المختبر المناسب لتجنب التعرض للمخاطر. تعامل مع الكواشف المستخدمة باعتبارها نفايات كيميائية وتخلّص منها وفقًا للقوانين واللوائح الإقليمية، والوطنية، والمحلية المعمول بها. للاطلاع على المعلومات البيئية والصحية والمتعلقة بالسلامة، راجع ورقة بيانات السلامة (SDS) على support.illumina.com/sds.html.

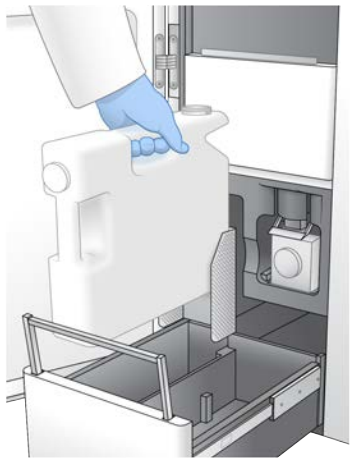
1 أزل زجاجة الكاشف الصغيرة المستخدمة وقم بإفراغها كما يلي.

a ارفع ذراع الرفع وأزل زجاجة الكاشف الصغيرة المستخدمة من الفجوة. أمسك الزجاجة من الجوانب.
b انزع الغطاء المُحزز من حامل الغطاء عند مقدمة الزجاجة.
c أغلق فتحة الزجاجة باستخدام غطاء لمنع الانسكاب.
d احفظ المحتويات بعيدًا عن محتويات الزجاجات الأخرى، وتخلص منها وفقًا للمعايير المعمول بها.
e أعد الزجاجة بعد نزع الغطاء إلى الفجوة، ثم أخفض ذراع الرفع. خزّن الغطاء على حامل الغطاء.

2 أزل زجاجة الكاشف الكبيرة المستخدمة وقم بإفراغها كما يلي.

a باستخدام المقبض الأعلى، أزل زجاجة الكاشف الكبيرة المستخدمة من الجانب الأيسر لدرج التخزين المؤقت.
b انزع الغطاء المُحزز من حامل الغطاء عند مقدمة الزجاجة.
c أغلق فتحة الزجاجة باستخدام الغطاء المحزز لمنع الانسكاب.
d تخلص من المحتويات وفقًا للمعايير المعمول بها. أمسك كلا المقبضين عند التفريغ.
e أعد الزجاجة بعد نزع الغطاء إلى درج التخزين المؤقت. خزّن الغطاء على حامل الغطاء.

الشكل 13 إعادة الزجاجة الفارغة



3 ارتدِ زوجًا جديدًا من القفازات الخالية من المساحيق لتجنب حدوث تلوث لسطح الجهاز.

4 أغلق درج التخزين المؤقت، ثم أغلق أبواب حجرة السائل.

تحذير
يمكن أن يؤدي عدم إفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة إلى توقف عملية التشغيل وحدوث فائض، مما يتسبب في تلف الجهاز ويشكل خطرًا على السلامة.

تحضير خلية التدفق

1 قم بإزالة حزمة خلية التدفق الجديدة من التخزين في درجة حرارة من 2 إلى 8 درجات مئوية.

2 ضع حزمة خلية التدفق محكمة الغلق جانباً لمدة 10 إلى 15 دقيقة للسماح لخلية التدفق بالوصول إلى درجة حرارة الغرفة.
استخدم خلية التدفق خلال 12 ساعة من إزالتها من الحزمة.

تجميع خواص المكتبات وتعديلها للتسلسل

إنشاء مجموعة مكتبات معيارية

اتبع التعليمات التالية لضبط المكتبات معياريًا إلى التركيز المناسب، ومن ثمّ تجميعها. يجب دمج المكتبات المتسلسلة بخلية التدفق نفسها في مجموعة معيارية فردية.

1 راجع الجدول التالي للاطلاع على العدد النموذجي للقراءات والكمية الموصى بها حسب نوع خلية التدفق والتطبيق.

الجدول 12 كمية مجموعة المكتبة الموصى بها

التطبيق	نوع خلية التدفق	قراءات ذات نهاية مقترنة تمر من الفلتر لكل خلية تدفق (B)	المكتبات لكل ممر
الجينومات البشرية	SP	1.6-1.3	2~
	S1	3.2–2.6	4~
	S2	8.2-6.6	10~
	S4	20-16	24~
إكسومات	SP	1.6-1.3	20~
	S1	3.2–2.6	40~
	S2	8.2-6.6	100~
	S4	20-16	250~
ترنسكريبتومات	SP	1.6-1.3	16~
	S1	3.2–2.6	32~
	S2	8.2-6.6	82~
	S4	20-16	200~

ضبط المكتبات معياريًا للتجميع

1 حدد تركيز المكتبة المجمعة اللازم وفقًا لتركيز التحميل النهائي المطلوب.
راجع *تركيزات التحميل الموصى بها* في الصفحة 30.

تركيز التحميل النهائي (بالبيكومول)	تركيز المكتبة المجمعة (بالنانومول)
100	0.50
150	0.75
200	1
250	1.25
300	1.50
350	1.75
400	2
450	2.25
500	2.50

2 اضبط المكتبات معياريًا إلى التركيز الخاص بالمكتبة المجمعة المطلوب، وذلك باستخدام 10 ملي مول من Tris-HCl، الأس الهيدروجيني 8.5.
للحصول على المساعدة بشأن تخفيف المكتبات إلى التركيز المناسب، راجع حاسبة التجميع على موقع Illumina.

المستند رقم 1000000019358 إصدار 11 ARA المادة رقم 20023471
للاستخدام البحثي فقط. لا يستخدم في الإجراءات التشخيصية.

تركيزات التحميل الموصى بها

يعتمد تركيز تحميل الحمض النووي الأمثل على نوع المكتبة وحجم الإدخال. يُقدم الجدول التالي تركيزات تحميل الحمض النووي المُوصى بها بناءً على مكتبات شركة Illumina مع أحجام إدخال ≥ 450 زوج قاعدي. قم بتحميل المكتبات باستخدام أحجام إدخال أصغر عند الحدّ الأدنى من النطاق الموصى به. بالنسبة للمكتبات > 450 زوجًا قاعديًا، قد يكون من الضروري زيادة تركيزات التحميل.

ملاحظة

بالنسبة للمكتبات التي يتم إنشاؤها من طرق أخرى غير Illumina لتحضير المكتبة، قد تحتاج إلى إجراء معايرة لنوع مكتبتك المحددة في البداية للحصول على تركيز توزيع مثالي لتحقيق أفضل نسبة للمرور من الفلتر ٪PF. عند تحديد تركيز التحميل الأمثل، يجب أن ينطبق على أنواع المكتبات المتطابقة التي تتحرك للأمام.

الجدول 13 تركيزات التحميل الموصى بها لسير العمل القياسي Standard Workflow (برنامج إصدار 1.1، أو الإصدار الأحدث)

نوع المكتبة	تركيز التحميل النهائي (بالبيكومول)	تركيز التحميل المجمع (بالنانومول)
PhiX[1]	250	1.25
مجموعة مكتبة خالية من تفاعل البلمرة التسلسلي (PCR) للحمض النووي	350-175	1.75-0.875
مجموعة مكتبة تُضخم تفاعل البلمرة التسلسلي (PCR) للحمض النووي	600-300	3.0-1.5
خلية أحادية[2]	250-500	1.25-2.5

[1] لعملية تشغيل PhiX فقط.

[2] تم التحقق من صحة خلية أحادية لسير عمل Xp فقط.

إذا كان لديك تركيز تحميل نهائي أمثل لـ HiSeq™ X، أو HiSeq™ 4000، أو HiSeq™ 3000، فاستخدم 1.5× ذلك التركيز لـ NovaSeq 6000. على سبيل المثال، إذا كان تركيز التحميل النهائي الخاص بك 200 بيكومول لـ HiSeq X، فاستخدم 300 بيكومول لـ NovaSeq 6000.

تجميع المكتبات المعيارية وإضافة PhiX Control الاختياري

1 قم بجمع الحجم المناسب من كل مكتبة معيارية في أنبوب طرد مركزي جديد لينتج أحد الأحجام النهائية التالية:

الوضع	الحجم النهائي (بالميكرولتر)
SP/S1	100
S2	150
S4	310

على سبيل المثال، بالنسبة لمجموعة المكتبة التي تحتوي على 6 مجموعات متداخلة والوضع S2، قم بدمج 25 ميكرولتر لكل مكتبة تم ضبطها معياريًا إلى التركيز نفسه. أو لمجموعة المكتبة التي تحتوي على 4 مجموعات متداخلة والوضع S1، قم بدمج 25 ميكرولتر لكل مكتبة معيارية لم يتم تعديل خواصها.

2 **[اختياري]** قم بتخزين المكتبات ***غير المجمعة*** المتبقية في درجة حرارة تتراوح بين -25 إلى -15 درجة مئوية.

3 **[اختياري]** قم بزيادة 1% من PhiX الذي لم يتم تعديل خواصه على النحو التالي.

a قم بتخفيف 10 نانومول من PhiX إلى 2.5 نانومول، وذلك باستخدام 10 ملليمول من Tris-HCl، بالأس الهيدروجيني 8.5.

b قم بإضافة الحجم المناسب من 2.5 نانومول من PhiX الذي لم يتم تعديل خواصه إلى أنبوب مجموعة المكتبة التي لم يتم تعديل خواصها.

الوضع	2.5 نانومول من PhiX الذي لم يتم تعديل خواصه (بالميكرولتر)	مجموعة المكتبة التي لم يتم تعديل خواصها (بالميكرولتر)
SP/S1	0.6	100
S2	0.9	150
S4	1.9	310

عند زيادة PhiX، تكون نسبة 1% هي النسبة الموصى بها للمكتبات المتزنة. يمكن أن تتطلب المكتبات قليلة التنوع نسبة أكبر. لاستخدام PhiX control مع مكتبات قليلة التنوع، يرجى الاتصال بالدعم الفني لشركة Illumina للحصول على الإرشاد.

تحضير هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) مخفف حديثًا

قم بتحضير ***محلول*** مخفف حديثًا من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.2 N لتعديل خواص المكاتب من أجل إجراء التسلسل. لمنع أخطاء السحب بالماصة الصغيرة من التأثير على تركيز هيدروكسيد الصوديوم النهائي، يتم إعداد حجم إضافي.

تنبيه

يكون هيدروكسيد الصوديوم المُخفف حديثًا بتركيز 0.2 N ضروريًا لعملية تعديل الخواص (التمسخ). يمكن أن يتسبب تعديل الخواص (التمسخ) غير الصحيح في تقليل النتيجة.

1 قم بدمج الأحجام التالية في أنبوب طرد مركزي دقيق لتخفيف هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 N إلى 0.2 N:

الجدول 14 وضع SP/S1/S2

الكاشف	حجم خلية تدفق واحدة (بالميكرولتر)	حجم خليتي تدفق (بالميكرولتر)
ماء عالي الجودة وفقًا لمعايير المختبر	40	80
مخزن هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 N	10	20

ينتج عن هذه الأحجام 50 ميكرولتر بتركيز 0.2 N من هيدروكسيد الصوديوم لخلية تدفق واحدة أو 100 ميكرولتر بتركيز 0.2 N من هيدروكسيد الصوديوم لخليتي التدفق.

الجدول 15 الوضع S4

الكاشف	حجم خلية تدفق واحدة (بالميكرولتر)	حجم خليتي تدفق (بالميكرولتر)
ماء عالي الجودة وفقًا لمعايير المختبر	80	160
مخزن هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 N	20	40

ينتج عن هذه الأحجام 100 ميكرولتر بتركيز 0.2 N من هيدروكسيد الصوديوم لخلية تدفق واحدة أو 200 ميكرولتر بتركيز 0.2 N من هيدروكسيد الصوديوم لخليتي التدفق.

2 قم بالقلب عدة مرات لكي تُحدث خلطًا أو قم بإجراء حركة دوامية شاملة. حافظ على الأنبوب مُغطى واستخدمه في غضون ***12 ساعة***.

تعديل خواص مجموعة المكتبة وPhiX Control الاختياري

1 أضف تركيز 0.2 N من هيدروكسيد الصوديوم إلى أنبوب مجموعة المكتبة التي لم يتم تعديل خواصها وPhiX الاختياري على النحو التالي.

خلية التدفق	هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.2 N	مجموعة المكتبة التي لم يتم تعديل خواصها (بالميكرولتر)	**الحجم الناتج**
SP/S1	25	100	**125 ميكرولتر، أو 125.6 ميكرولتر مع PhiX**
S2	37	150	**187 ميكرولتر، أو 187.9 ميكرولتر مع PhiX**
S4	77	310	**387 ميكرولتر، أو 388.9 ميكرولتر مع PhiX**

2 قم بالتغطية ثم قم بحركة دوامية لفترة وجيزة.

3 قم بالطرد المركزي عند 280 × g لمدة تصل إلى دقيقة واحدة.

4 ضعها في حضانة في درجة حرارة الغرفة لمدة 8 دقائق لتعديل الخواص.

5 أضف 400 مللي مول من Tris-HCl، بالأس الهيدروجيني 8.0 على النحو التالي للتحييد.

الوضع	400 مللي مول من Tris-HCl، بالأس الهيدروجيني 8.0 (بالميكرولتر)	**الحجم الناتج**
SP/S1	25	**150 ميكرولتر، أو 150.6 ميكرولتر مع PhiX**
S2	38	**225 ميكرولتر، أو 225.9 ميكرولتر مع PhiX**
S4	78	**465 ميكرولتر، أو 466.9 ميكرولتر مع PhiX**

6 قم بالتغطية ثم قم بحركة دوامية لفترة وجيزة.

7 قم بالطرد المركزي عند 280 × g لمدة تصل إلى دقيقة واحدة.

8 انقل الحجم الكامل لمكتبة تم تعديل خواصها أو مكتبة تم تعديل خواصها وPhiX إلى أنبوب المكتبة المتوفر مع مجموعة الكاشف NovaSeq 6000.

9 وتابع على الفور تحميل أنبوب المكتبة داخل خرطوشة العنقود وإعداد التشغيل.
يجب أن يتم تحميل خراطيش الكاشف، بما في ذلك أنبوب المكتبة، على الجهاز في غضون ***30 دقيقة***.

10 **[اختياري]** إذا لم تتمكن من المتابعة فورًا، فقم بتغطية أنبوب المكتبة وتخزينه في درجات حرارة من -25 إلى -15 درجة مئوية لمدة تصل إلى ثلاثة أسابيع. لا تقم بإعادة التجميد بعد الذوبان.

تنبيه
خزّن أنبوب المكتبة عند الضرورة فقط. يؤدي التخزين على المدى الطويل في درجات حرارة من -25 درجة مئوية إلى -15 درجة مئوية إلى زيادة التكرارات، مما يقلل من الناتج.

تحضير خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود

1 افحص الجانب السفلي لكل خرطوشة للتأكد أن الخزانات خالية من الثلج، مما يشير إلى أنه تتم إذابة الكواشف.

2 اقلب كل خرطوشة 10 مرات لخلط الكواشف.

3 اضغط بلطف على الجزء السفلي من كل خرطوشة على القاعدة لتقليل فقاعات الهواء.

تحميل أنبوب المكتبة

1 دون الاقتراب من المكتبة في الأسفل، أدخل أنبوب المكتبة غير المغطى إلى موقع **أنبوب المكتبة** (رقم 8) من خرطوشة العنقود.

الشكل 14 أنبوب المكتبة غير المغطى المُحمّل في الموقع رقم 8

الفصل 5 سير عمل NovaSeq Xp: إعداد المستَهلكات

ملخص سير عمل NovaSeq Xp 33
الطرق 34
إرشادات المكتبة 34
إذابة خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود 34
إفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة 35
تحضير خلية التدفق 36
المجموعة، وتعديل الخواص، وتحميل المكتبات لإجراء التسلسل 37

ملخص سير عمل NovaSeq Xp

قبل بدء تحضير العينات أو المستَهلكات، تأكد من أن إصدار برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) يُلبي الحد الأدنى من متطلبات البرامج المدرجة في الجدول التالي.

الجدول 16 الحد الأدنى لمتطلبات البرامج

خلية التدفق	الحد الأدنى من إصدار البرنامج
SP	1.6
S1	1.3.1
S2	الكل
S4	1.2.0

ملاحظة

يدعم برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) البدء المتدرج لعملية التشغيل الجديدة. راجع *البدء المتدرج لعمليات التشغيل* في الصفحة 52.

تأكد من إكمال جميع الخطوات في سير عمل NovaSeq Xp، بالترتيب المحدد.

ملاحظة

يمكن إكمال الخطوات من 1 إلى 5 في الوقت نفسه، ويجب إكمالها قبل المتابعة إلى الخطوة 6.

1 قم بإذابة خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود.

2 قم بإفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة.

3 اضبط المكتبات معياريًا.

4 قم بتجميع المكتبات وإضافة PhiX control اختياري.

5 ضع حزمة خلية التدفق محكمة الغلق جانباً لمدة 15-10 دقيقة للسماح لخلية التدفق بالوصول إلى درجة حرارة الغرفة. استخدم خلية التدفق خلال 12 ساعة من إزالتها من الحزمة.

ملاحظة

أكمل الخطوات من 6 إلى 12 بالترتيب المحدد.

6 قم بإذابة كواشف ExAmp.

7 قم بتحضير هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) مخفف حديثًا.

8 قم بتعديل خواص مجموعة المكتبة وتحييدها.

9 قم بتحضير خلية التدفق والحوض.

10 قم بتحضير محلول ExAmp master mix.

11 قم بتحميل خليط ExAmp/المكتبة في خلية التدفق.

12 قم بتحميل أنبوب المكتبة الفارغ في الموقع رقم 8 من خرطوشة العنقود.

الطرق

- تأكد من حصولك على المستهلكات والمعدات اللازمة. راجع *المستهلكات والمعدات التي يوفرها المستخدم* في الصفحة 23.
- تأكد من تشغيل الجهاز ومن توفر مساحة تخزين كافية لعملية التشغيل. راجع *إدارة العملية* في الصفحة 7.
- تأكد من انتهاء غسيل ما بعد التشغيل التلقائي على جانبي الجهاز قبل البدء في الخطوة رقم 6 من سير العمل (راجع *ملخص سير عمل NovaSeq Xp* في الصفحة 33.
- تحقق دومًا من الملصق عندما تُحضر المستهلكات لضمان التوافق بين المكونات. لا تخلط مكونات SP، وS1، وS2، وS4 أو المكونات ذات ممرين وأربعة ممرات بأحد جانبي الجهاز.
- اتبع التعليمات حسب الترتيب الظاهر باستخدام الكميات، ودرجات الحرارة والمُدد الزمنية المحددة.
- ضع جميع الكواشف والمكتبات في الثلج في حال عدم خلطها بشكل فعّال.
- إذا لم تظهر نقطة توقف محددة في التعليمات، فتابع الخطوة التالية مباشرةً.
- لبدء التسلسل بنجاح في خلية تدفق ذات ممرين، يجب ملء كلا الممرين. لبدء إجراء التسلسل بنجاح في خلية تدفق ذات أربعة ممرات، يمكن ملء ممر واحد جزئيًا أو تركه فارغًا.
- الأسباب الأكثر شيوعًا لتباين النتائج عند خلط كواشف ExAmp يدوياً هي التوزيع غير الدقيق لأحجام مكوّن ExAmp وعدم الخلط بشكل كافٍ. تجنّب الخلط بشكل غير كافٍ.

ملاحظة

ابدأ تشغيل التسلسل مباشرةً بعد تحميل المكتبات في خلية التدفق، ويُفضّل أن يكون ذلك خلال 30 دقيقة.

إرشادات المكتبة

تنطبق جميع التعليمات على طرق تحضير المكتبة المدعومة وتفترض حجم إدخال مثاليًا لتطبيقات NovaSeq 6000 المدعومة.

- للحصول على أفضل النتائج، قم بتجميع المكتبات وتعديل خواصها الطبيعية فورًا قبل التسلسل.

  بالنسبة لسير عمل NovaSeq Xp، لا تحضر محلول ExAmp Master Mix حتى تكون جاهزًا لإجراء التسلسل.
- قم بتخفيف المكتبة إلى تركيز التحميل المناسب للتطبيق. يؤثر تركيز التحميل المنخفض للغاية أو المرتفع للغاية سلبًا على نسبة العناقيد التي تمر من الفلتر (PF%). يتسبب تركيز المكتبة المنخفض في زيادة تكرار التسلسل. يمكن لتركيز المكتبة المرتفع للغاية خفض نسبة المرور من الفلتر PF%.
- يتطلب تحقيق أمثل نسبة للمرور من الفلتر PF% قياسًا كميًا دقيقًا للمكتبة ومراقبة جودة ملائمة. للحصول على التوصيات، راجع الوثائق الخاصة بمجموعة إعداد مكتبتك.
- قم بتحميل أنبوب مكتبة فارغ في الموقع رقم 8 لخرطوشة العنقود قبل أن تقوم بإعداد تشغيل التسلسل. تستخدم أنبوب المكتبة الفارغ لتحضير خليط التبريد قبل التوزيع في خلية التدفق. يساعد خليط التبريد على تعزيز كفاءة العناقيد لإجراء التسلسل.

إذابة خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود

1 إذا كانت هناك عملية تسلسل قيد التشغيل، فتأكد من أن كلا جانبي الجهاز متاحان عند اكتمال الذوبان.

2 قم بإزالة خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود من التخزين في درجة حرارة من -25 درجة مئوية إلى -15 درجة مئوية.

المستند رقم 1000000019358 إصدار 11 ARA المادة رقم 20023471
للاستخدام البحثي فقط. لا يستخدم في الإجراءات التشخيصية.

3 ضع كل خرطوشة داخل رف الذوبان السلكي.
يتم توفير الرفوف مع الجهاز ويمنع الانقلاب في حمام الماء.

الشكل 15 الخراطيش في رفوف الذوبان السلكية

4 قم بالإذابة في حمام مياه في درجة حرارة الغرفة (من 19 درجة مئوية إلى 25 درجة مئوية).
قم بالغمر إلى النصف تقريبًا.

5 استخدم الجدول التالي لتحديد مدة الذوبان.

تنبيه
قد يؤدي استخدام الماء الساخن في إذابة الكواشف إلى تقليل جودة البيانات أو فشل عملية التشغيل.

خرطوشة	مدة الذوبان
خرطوشة SP، وS1، وS2 SBS	4 ساعات
خرطوشة العنقود SP، وS1، وS2	يصل إلى ساعتين
خرطوشة S4 SBS	4 ساعات
خرطوشة العنقود S4	يصل إلى 4 ساعة

6 جفف قواعد الخرطوشة تمامًا باستخدام المناشف الورقية. جفف ما بين المَجمعات حتى تتم إزالة المياه بالكامل.

7 افحص السدادات الرقاقية للتأكد من وجود مياه. في حالة وجود مياه، نظّف باستخدام منديل خالٍ من الوبر للتجفيف

8 افحص الجانب السفلي لكل خرطوشة للتأكد أن الخزانات خالية من الثلج، مما يشير إلى أنه تتم إذابة الكواشف.

9 اقلب كل خرطوشة 10 مرات لخلط الكواشف.

10 اضغط بلطف على الجزء السفلي من كل خرطوشة على القاعدة لتقليل فقاعات الهواء.

11 إذا تعذر تحميل الكواشف على الجهاز في غضون 4 ساعات، فقم بالتخزين في درجات حرارة من 2 درجة مئوية إلى 8 درجات مئوية لمدة تصل إلى 24 ساعة.

إفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة

اتبع التعليمات التالية لإفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة مع **كل** عملية تشغيل للتسلسل. إذا تمت تهيئة نظامك لتوجيه الكواشف المستخدمة خارجيًا، فإن الزجاجة الصغيرة تجمع الكواشف المستخدمة ويجب تفريغها بعد كل عملية تشغيل للتسلسل. يجب أن تكون الزجاجة الكبيرة في مكانها.

تحذير
تحتوي هذه المجموعة من الكواشف على مواد كيميائية يُحتمل أن تكون خطرة. يمكن أن تحدث الإصابة الشخصية عن طريق استنشاق تلك المواد، وابتلاعها وملامستها للجلد والعين. ارتدِ معدات الحماية، بما في ذلك واقي العين، والقفازات، ومعطف المختبر المناسب لتجنب التعرض للمخاطر. تعامل مع الكواشف المستخدمة باعتبارها نفايات كيميائية وتخلّص منها وفقًا للقوانين واللوائح الإقليمية، والوطنية، والمحلية المعمول بها. للاطلاع على المعلومات البيئية والصحية والمتعلقة بالسلامة، راجع ورقة بيانات السلامة (SDS) على support.illumina.com/sds.html.

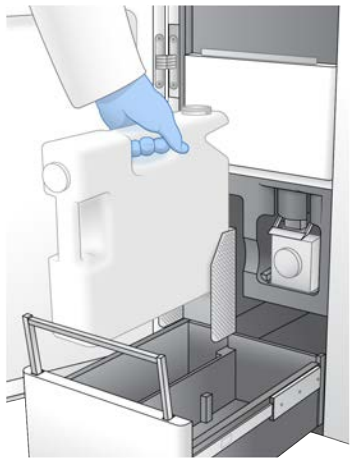
1 أزل زجاجة الكاشف الصغيرة المستخدمة وقم بإفراغها كما يلي.

a ارفع ذراع الرفع وأزل زجاجة الكاشف الصغيرة المستخدمة من الفجوة. أمسك الزجاجة من الجوانب.
b انزع الغطاء المُحزز من حامل الغطاء عند مقدمة الزجاجة.
c أغلق فتحة الزجاجة باستخدام غطاء لمنع الانسكاب.
d احفظ المحتويات بعيدًا عن محتويات الزجاجات الأخرى، وتخلص منها وفقًا للمعايير المعمول بها.
e أعد الزجاجة بعد نزع الغطاء إلى الفجوة، ثم أخفض ذراع الرفع. خزّن الغطاء على حامل الغطاء.

2 أزل زجاجة الكاشف الكبيرة المستخدمة وقم بإفراغها كما يلي.

a باستخدام المقبض الأعلى، أزل زجاجة الكاشف الكبيرة المستخدمة من الجانب الأيسر لدرج التخزين المؤقت.
b انزع الغطاء المُحزز من حامل الغطاء عند مقدمة الزجاجة.
c أغلق فتحة الزجاجة باستخدام الغطاء المحزز لمنع الانسكاب.
d تخلص من المحتويات وفقًا للمعايير المعمول بها. أمسك كلا المقبضين عند التفريغ.
e أعد الزجاجة بعد نزع الغطاء إلى درج التخزين المؤقت. خزّن الغطاء على حامل الغطاء.

الشكل 16 إعادة الزجاجة الفارغة



3 ارتدِ زوجًا جديدًا من القفازات الخالية من المساحيق لتجنب حدوث تلوث لسطح الجهاز.

4 أغلق درج التخزين المؤقت، ثم أغلق أبواب حجرة السائل.

تحذير
يمكن أن يؤدي عدم إفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة إلى توقف عملية التشغيل وحدوث فائض، مما يتسبب في تلف الجهاز ويشكل خطرًا على السلامة.

تحضير خلية التدفق

1 قم بإزالة حزمة خلية التدفق الجديدة من التخزين في درجة حرارة من 2 إلى 8 درجات مئوية.

2 ضع حزمة خلية التدفق محكمة الغلق جانباً لمدة 10 إلى 15 دقيقة للسماح لخلية التدفق بالوصول إلى درجة حرارة الغرفة. استخدم خلية التدفق خلال 12 ساعة من إزالتها من الحزمة.

المجموعة، وتعديل الخواص، وتحميل المكتبات لإجراء التسلسل

إذابة كواشف ExAmp

1 أزل أنبوبًا واحدًا لكلٍ من DPX1، وDPX2، وDPX3 من التخزين في درجة -25 إلى -15 درجة مئوية.

2 قم بالإذابة في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق.

3 ضعها جانبًا في الثلج.

ملاحظة

إذا توجبت عليك إعادة تجميد كواشف ExAmp غير المفتوحة، فافعل ذلك بعد الذوبان فورًا. يمكن إعادة تجميد كواشف ExAmp مرة واحدة فقط. لا يمكن تجميد الكواشف المتخلفة أو دمجها.

إنشاء مجموعة مكتبات معيارية

اتبع التعليمات التالية لضبط المكتبات معياريًا إلى التركيز المناسب، ومن ثمّ تجميعها. يجب دمج المكتبات المتسلسلة بالممر نفسه في مجموعة فردية. يظهر الحجم الإجمالي للممر لكل مجموعة معيارية في الجدول التالي. إذا أُجري تسلسل المجموعة نفسها عبر أكثر من ممر واحد، فقم بضرب القيمة من الجدول 17 في عدد الممرات.

الجدول 17 الحجم الإجمالي للمكتبة المجمعة

الوضع	الحجم الإجمالي للمجموعة لكل ممر (بالميكرولتر)
SP/S1	18
S2	22
S4	30

بالنسبة لسير عمل Xp، يتم الحصول على إخراج البيانات لكل ممر، بدلًا من جميع الممرات بشكل إجمالي كما في سير العمل القياسي. نتيجة لذلك، تحتوي مجموعات المكتبة الخاصة بسير عمل Xp على مكتبات أقل مقارنة بسير العمل القياسي.

راجع الجدول التالي للاطلاع على العدد النموذجي للقراءات والكمية الموصى بها حسب نوع خلية التدفق والتطبيق.

الجدول 18 كمية مجموعة المكتبة الموصى بها

التطبيق	نوع خلية التدفق	قراءات ذات نهاية مقترنة تمر من الفلتر لكل ممر (B)	المكتبات لكل ممر
الجينومات البشرية	SP	8.–65.	1
	S1	1.6-1.3	2~
	S2	4.1-3.3	5~
	S4	5.0-4.0	6~
إكسومات	SP	8.–65.	10~
	S1	1.6-1.3	20~
	S2	4.1-3.3	50~
	S4	5.0-4.0	62~
ترنسكريبتومات	SP	8.–65.	8~
	S1	1.6-1.3	16~
	S2	4.1-3.3	41~
	S4	5.0-4.0	50~

ضبط المكتبات معياريًا للتجميع

1 حدد تركيز المكتبة المجمعة اللازم وفقًا لتركيز التحميل النهائي المطلوب.
راجع *تركيزات التحميل الموصى بها* في الصفحة 38.

تركيز التحميل النهائي (بالبيكومول)	تركيز المكتبة المجمعة (بالنانومول)
100	0.5
150	0.75
200	1.0
250	1.25
300	1.5
350	1.75
400	2.0
450	2.25
500	2.5

2 اضبط المكتبات معياريًا إلى التركيز الخاص بالمكتبة المجمعة المطلوب، وذلك باستخدام 10 ملليمول من Tris-HCl، بالأس الهيدروجيني 8.5. للمساعدة في تخفيف المكتبات إلى التركيز المناسب، راجع حاسبة التجميع على support.illumina.com/help/pooling-calculator/pooling-calculator.html.

تركيزات التحميل الموصى بها

يعتمد تركيز تحميل الحمض النووي الأمثل على نوع المكتبة وحجم الإدخال. يُقدم الجدول التالي تركيزات تحميل الحمض النووي المُوصى بها بناءً على مكتبات شركة Illumina مع أحجام إدخال ≥ 450 زوج قاعدي. قم بتحميل المكتبات باستخدام أحجام إدخال أصغر عند الحدّ الأدنى من النطاق الموصى به. بالنسبة للمكتبات < 450 زوجًا قاعديًا، قد يكون من الضروري زيادة تركيزات التحميل.

الجدول 19 تركيزات التحميل الموصى بها

نوع المكتبة	تركيز التحميل النهائي (بالبيكومول)	تركيز التحميل المجمع (بالنانومول)
PhiX[1]	100	0.5
مجموعة مكتبة خالية من تفاعل البلمرة التسلسلي (PCR) للحمض النووي	235-115	1.175-0.575
مجموعة مكتبة تُضخم تفاعل البلمرة التسلسلي (PCR) للحمض النووي	400-200	2.0-1.0
خلية أحادية	175-275	1.375–875.

[1] لعملية تشغيل PhiX فقط.

إذا كان لديك تركيز تحميل أمثل لـ HiSeq™ X، أو4000 HiSeq™ أو 3000 HiSeq™، فاستخدم التركيز نفسه تقريبًا لسير عمل NovaSeq Xp. إذا كان لديك تركيز تحميل أمثل خاص بسير عمل NovaSeq Standard القياسي، فاستخدم مقدارًا أقل بحوالي 1/3 لسير عمل NovaSeq Xp.

ملاحظة

قد تلزم معايرة المكتبات للحصول على تركيز التوزيع الأمثل. عند تحديد تركيز التحميل الأمثل، فإنه ينطبق على أنواع المكتبات المتطابقة.

تجميع المكتبات المعيارية وإضافة PhiX Control الاختياري

1 قم بالجمع بين حجم مناسب من كل مكتبة معيارية في أنبوب طرد مركزي جديد لينتج الأحجام النهائية المناسبة لكل ممر.

الوضع	الحجم الإجمالي للمجموعة لكل ممر (بالميكرولتر)
SP/S1	18
S2	22
S4	30

على سبيل المثال، بالنسبة لمجموعة المكتبة التي تحتوي على 6 مجموعات متداخلة والوضع S4، قم بدمج 5 ميكرولتر لكل مكتبة تم ضبطها معياريًا إلى التركيز نفسه.

2 **[اختياري]** قم بتخزين المكتبات ***غير المجمعة*** المتبقية في درجة حرارة تتراوح بين -25 إلى -15 درجة مئوية.

3 **[اختياري]** قم بزيادة 1% من PhiX الذي لم يتم تعديل خواصه على النحو التالي.

a قم بتخفيف 10 نانومول من PhiX إلى 0.25 نانومول، وذلك باستخدام 10 مللي مول من Tris-HCl، بالأس الهيدروجيني 8.5.
b قم بإضافة الحجم المناسب من PhiX إلى أنبوب مجموعة المكتبة التي لم يتم تعديل خواصها.

الوضع	0.25 نانومول من PhiX الذي لم يتم تعديل خواصه (بالميكرولتر)	مجموعة المكتبة التي لم يتم تعديل خواصها (بالميكرولتر)
SP/S1	0.7	18
S2	0.8	22
S4	1.1	30

عند زيادة PhiX، تكون نسبة 1% هي النسبة الموصى بها للمكتبات المتزنة. يمكن أن تتطلب المكتبات قليلة التنوع نسبة أكبر. لاستخدام PhiX control مع مكتبات قليلة التنوع، يرجى الاتصال بالدعم الفني لشركة Illumina للحصول على الإرشاد.

تحضير هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) مخفف حديثًا

قم بتحضير ***محلول*** مخفف حديثًا من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.2 N لتعديل خواص المكاتب من أجل إجراء التسلسل. لتقليل أخطاء السحب بالماصة التي قد تؤثر على تركيز هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) النهائي، قم بتحضير ما لا يقل عن 30 ميكرولتر من هيدروكسيد الصوديوم المُخفف لكل خلية تدفق. لتشغيل خلية التدفق المزدوجة، قم بتحضير 60 ميكرولتر من هيدروكسيد الصوديوم المُخفف.

تنبيه
يكون هيدروكسيد الصوديوم المُخفف حديثًا بتركيز 0.2 N ضروريًا لعملية تعديل الخواص (التمسخ). يمكن أن يتسبب تعديل الخواص (التمسخ) غير الصحيح في تقليل النتيجة.

1 لخلية تدفق واحدة، قم بدمج الأحجام التالية في أنبوب طرد مركزي دقيق لتخفيف هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 N إلى 0.2 N.
- ماء عالي الجودة وفقًا لمعايير المختبر (24 ميكرولتر)
- هيدروكسيد صوديوم مُخزّن بتركيز 1 6) N ميكرولتر)

تُنتج هذه الأحجام 30 ميكرولتر من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.2. لخليتي تدفق، قم بمضاعفة الحجم.

2 قم بالقلب عدة مرات لكي تُحدث خلطًا أو قم بإجراء حركة دوامية شاملة. حافظ على الأنبوب مُغطى واستخدمه في غضون ***12 ساعة***.

تعديل خواص مجموعة المكتبة وPhiX Control الاختياري

1 أضف تركيز 0.2 N من هيدروكسيد الصوديوم إلى أنبوب مجموعة المكتبة التي لم يتم تعديل خواصها وPhiX الاختياري على النحو التالي.

الوضع	هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.2 N (بالميكرولتر)	مجموعة المكتبة التي لم يتم تعديل خواصها (بالميكرولتر)	**الحجم الناتج**
SP/S1	4.0	18.0	**22.0 ميكرولتر، أو 22.7 ميكرولتر مع PhiX**
S2	5.0	22.0	**27.0 ميكرولتر، أو 27.8 ميكرولتر مع PhiX**
S4	7.0	30.0	**37.0 ميكرولتر، أو 38.1 ميكرولتر مع PhiX**

2 قم بالتغطية ثم قم بحركة دوامية لفترة وجيزة.

3 قم بالطرد المركزي عند 280 × g كحد أقصى لمدة تصل إلى دقيقة واحدة.

4 ضعها في حضانة في درجة حرارة الغرفة لمدة 8 دقائق لتعديل الخواص.

5 أضف 400 مللي مول من Tris-HCl، بالأس الهيدروجيني 8.0 للتحييد على النحو التالي.

الوضع	400 مللي مول من Tris-HCl، بالأس الهيدروجيني 8.0 (بالميكرولتر)	**الحجم الناتج**
SP/S1	5.0	**27.0 ميكرولتر، أو 27.7 ميكرولتر مع PhiX**
S2	6.0	**33.0 ميكرولتر، أو 33.8 ميكرولتر مع PhiX**
S4	8.0	**45.0 ميكرولتر، أو 46.1 ميكرولتر مع PhiX**

6 قم بالتغطية ثم قم بحركة دوامية لفترة وجيزة.

7 قم بالطرد المركزي عند 280 × g كحد أقصى لمدة تصل إلى دقيقة واحدة.

8 احفظ المكتبات التي تم تعديل خواصها على الثلج حتى تصبح جاهزة لإضافة محلول ExAmp Master Mix.

9 **[اختياري]** إذا لم تتمكن من المتابعة فورًا، فقم بتغطية الأنبوب وتخزينه في درجات حرارة من -25 إلى -15 درجة مئوية لمدة تصل إلى ثلاثة أسابيع. لا تقم بإعادة التجميد بعد الذوبان.

تنبيه

خزّن مجموعات المكتبة التي تم تعديل خواصها عند الضرورة فقط. يمكن أن يزيد التخزين طويل المدى من التكرارات مما يقلل من الناتج.

تحضير خلية التدفق والحوض

1 ضع حوض خلية تدفق NovaSeq Xp على سطح مستوٍ. حافظ على مستوى خلية التدفق حتى يتم تحميلها في الجهاز.

2 افحص الحوض وتأكد من خلوه من الجسيمات.

3 ارتدِ زوجًا جديدًا من القفازات الخالية من المساحيق لتجنب حدوث تلوث للسطح الزجاجي الخاص بخلية التدفق.

4 أثناء وضع حزمة الرقاقة المعدنية لخلية التدفق على سطح مستوٍ، قم بتقشير الرقاقة لفتحها من لسان الزاوية.

5 أزل المثبت البلاستيكي الشفاف الذي يغطي خلية التدفق.

6 أزل خلية التدفق من الحزمة. أمسك خلية التدفق من الجانبين لتجنب لمس الزجاج أو مانعات تسرب الجانب السفلي.

7 إذا كانت الجسيمات مرئية على أي من الأسطح الزجاجية، فقم بتنظيف السطح القابل للتطبيق باستخدام منديل كحولي خالٍ من الوبر وتجفيفه باستخدام منديل مختبر قليل الوبر.

8 تخلص من الحزمة بشكل مناسب.

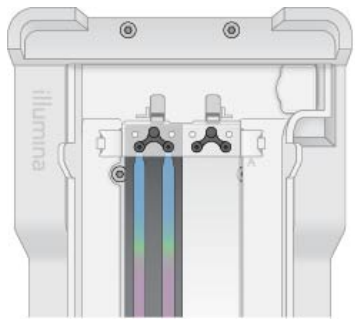
ملاحظة

تعتبر بعض الخدوش وغيرها من العيوب الشكلية البسيطة على خلية التدفق طبيعية ولا تؤثر على جودة البيانات.

9 اقلب خلية التدفق بحيث يكون السطح العلوي متجهًا **لأسفل**.

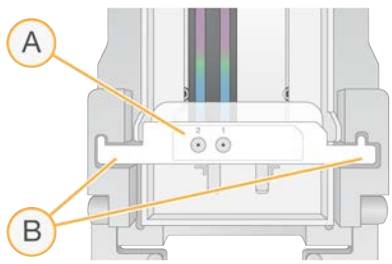
10 حرّك طرف الإخراج الخاص بخلية التدفق بحيث ينزلق أسفل الدعامة وضعها فوق الحوض. راجع *خلية التدفق* في الصفحة 11 وحوض *خلية تدفق NovaSeq Xp* في الصفحة 14.

الشكل 17 وضع خلية التدفق



11 بينما تكون المَجمعات متجهة لأعلى، قم بتحميل مشعب NovaSeq Xp أعلى طرف الإدخال الخاص بخلية التدفق. تأكد من أن ذراع مشعب NovaSeq Xp موضوعة بإحكام داخل قواطع الحوض.

الشكل 18 وضع مشعب NovaSeq Xp



A مَجمعات مشعب NovaSeq Xp متجهة لأعلى
B أذرع مَشعب NovaSeq Xp موضوعة في قواطع الحوض

12 أغلق المشبك لتثبيت خلية التدفق ومشعب NovaSeq Xp وأغلق موانع التسرب.

13 تخلص من مشعب NovaSeq Xp بعد تحميل مَجمعات المكتبة في خلية التدفق.
صُمم مشعب NovaSeq Xp للاستخدام لمرة واحدة فقط.

تحضير محلول ExAmp MasterMix

عند تحضير محلول ExAmp master mix، استخدم أنبوب طرد مركزي يحمل ضعف الحجم المطلوب على الأقل:

- بالنسبة لخلية التدفق ذات ممرين، استخدم أنبوب 0.5 مللي أو 1.7 مللي.
- بالنسبة لخلية التدفق ذات أربعة ممرات، استخدم أنبوب 1.7 مللي.

الأسباب الأكثر شيوعًا لتباين النتائج عند خلط كواشف ExAmp يدوياً هي التوزيع غير الدقيق للأحجام وعدم الخلط بشكل كافٍ. تجنّب الخلط بشكل غير كافٍ.

1 قم بالقلب أو قم بحركة دوامية لفترة وجيزة لخلط DPX1 وDPX2.

2 حرّك DPX3 حركة دوامية لفترة وجيزة لخلطه.
قد تتعرّض كواشف ExAmp للفصل أثناء التخزين. حيث تتسم باللزوجة، وخاصة DPX2 وDPX3. لا يُخلط DPX3 بسهولة عند قلبه نظرًا لزوجته العالية.

3 قم بالطرد المركزي لفترة وجيزة لـ DPX1، وDPX2، وDPX3.

4 قم بالجمع بين الأحجام التالية في أنبوب طرد مركزي مناسب بالترتيب المحدد.

ترتيب الإضافة	الكاشف*	حجم خلية تدفق ذات ممرين (SP/S1/S2) (بالميكرولتر)	حجم خلية تدفق ذات أربعة ممرات (S4) (بالميكرولتر)
1	DPX1	126	315
2	DPX2	18	45
3	DPX3	66	165

*قد تكون أغطية أنبوب الكاشف DPX محددة بالألوان (الأحمر، والأصفر، والأزرق لكل من DPX1، وDPX2 وDPX3 على التوالي). تأكد من الحفاظ على تحديد الألوان عند استبدال أغطية الأنبوب.

تُنتج هذه الأحجام 210 ميكرولتر من محلول ExAmp master mix في الأوضاع SP، أو S1، أو S2، أو 525 ميكرولتر من محلول Master Mix في الوضع S4. هذه الأحجام كافية للوضع المنطبق. يتم إدراج حجم إضافي ليمثل أخطاء الامتصاص عند تحميل المكتبات في خلية التدفق.

5 اسحب باستخدام الماصة وقم بالتوزيع ببطء بغرض تجنّب تكوّن الفقاعات، وتأكد من إخراج الحجم بأكمله من الطرف.

6 قم بحركة دوامية لمدة 20–30 ثانية، أو حتى يتم الخلط تمامًا.

ملاحظة

يُعد محلول ExAmp master mix ثابتًا عند تحريكه حركة دوامية.

قد يبدو الخليط ملبدًا بالغيوم، وهذا أمر طبيعي.

7 قم بالطرد المركزي بما يصل إلى 280 × g لمدة تصل إلى دقيقة واحدة.

8 **للحصول على أفضل أداء لإجراء التسلسل، انتقل مباشرةً إلى الخطوة التالية. كما تصل مدة التخزين المُثلى لمحلول master mix إلى ساعة واحدة في الثلج إذا لزم الأمر. استخدم المحلول في غضون 30 دقيقة إذا تم تخزينه في درجة حرارة الغرفة.**

تحميل المكتبات في خلية التدفق

للحصول على أفضل النتائج، قم بما يلي:

- الحفاظ على خلية التدفق التي تم تحميلها في درجة حرارة الغرفة. تجنب التبريد أو الوضع على الثلج.
- قد تقلل فترة الحضانة الممتدة من النسبة المئوية لمرور العناقيد من الفلتر (PF%).
- ابدأ عملية التشغيل في غضون 30 دقيقة بعد تحميل مجموعات المكتبة في خلية التدفق.
- يؤدي الاستخدام الفوري لخليط ExAmp/المكتبة إلى تحقيق أفضل النتائج.

1 أضف محلول ExAmp Master Mix لكل مجموعة مكتبة تم تعديل خواصها على النحو التالي، ثم قم بحركة دوامية لمدة 20–30 ثانية للخلط. في حال استخدام المقاطع الأنبوبية، اسحب باستخدام الماصة للتمكّن من الخلط إلى أن تُصبح متجانسه.

الوضع	مجموعة المكتبة التي تم تعديل خواصها (بالميكرولتر)	محلول ExAmp Master Mix (بالميكرولتر)	**الحجم الناتج (بالميكرولتر)**
SP/S1	27	63	**90**
S2	33	77	**110**
S4	45	105	**150**

2 قم بالطرد المركزي بما يصل إلى 280 × g لمدة تصل إلى دقيقة واحدة.

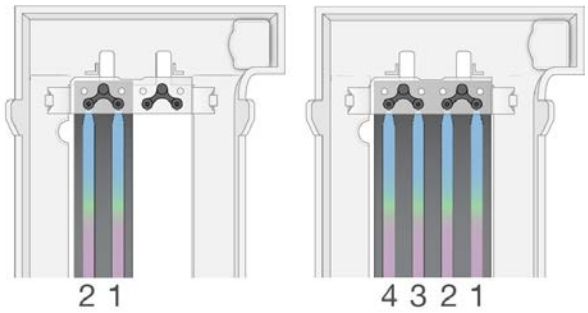
3 باستخدام ماصة p200 ميكرولتر، أضف الحجم المناسب من خليط ExAmp/المكتبة إلى كل مَجمع لمشعب NovaSeq Xp.

- لتجنب تكون فقاعات، قم بتحميل العينات ببطء.
- تأكد من إضافة خليط مجموعة المكتبة إلى المَجمع الذي يتطابق مع الممر المقصود.
- تجنب ملامسة الفلتر في أسفل المَجمع عند السحب باستخدام الماصة.
- ليس من الضروري الانتظار حتى يمتلئ الممر بالكامل قبل إضافة الخليط إلى مَجمعات المشعب المتبقية.

الوضع	خليط ExAmp/المكتبة لكل مجمع (بالميكرولتر)
SP/S1	80
S2	95
S4	130

تتطابق مَجمعات المشعب NovaSeq Xp المُرقمة مع رقم ممر خلية التدفق. عندما تكون خلية التدفق معكوسة الاتجاه، سيظهر ترقيم الممر معكوسًا.

الشكل 19 ترقيم الممرات المعكوس



4 بعد إضافة خليط ExAmp/المكتبة إلى جميع مَجمعات المشعب، انتظر دقيقتين تقريبًا حتى يصل الخليط إلى الطرف المقابل لكل ممر. يعد وجود فقاعة الهواء الصغيرة عند طرف الإخراج الخاص بالممر أمرًا طبيعيًا. قد يتبقى حجم صغير من الخليط في مَجمعات المَشعب بعد امتلاء الممر.

تنبيه

لا تقم بإمالة خلية التدفق عند محاولة تحديد ما إذا كانت الممرات ممتلئة أو أن الفقاعات موجودة أم لا. قد تؤدي إمالة خليط ExAmp/المكتبة إلى تسربه من خلية التدفق. إذا لم يمتلئ المر بالكامل، فلا تحاول تعديل ذلك. قد يتم خفض ناتج البيانات الخاص بالممر المملوء جزئيًا. لا تحاول استعادة العينة من خلية التدفق.

ملاحظة

لا تقم بإمالة خلية التدفق عند نقلها.

تحضير خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود

1 افحص الجانب السفلي لكل خرطوشة للتأكد أن الخزانات خالية من الثلج، مما يشير إلى أنه تتم إذابة الكواشف.

2 اقلب كل خرطوشة 10 مرات لخلط الكواشف.

3 اضغط بلطف على الجزء السفلي من كل خرطوشة على القاعدة لتقليل فقاعات الهواء.

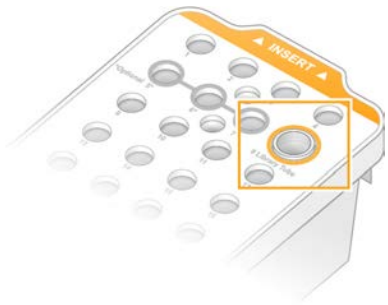
تحميل أنبوب المكتبة الفارغ

1 أزل غطاء أنبوب المكتبة المتوفر مع مجموعة الكاشف NovaSeq 6000.

2 أدخل أنبوب المكتبة غير المغطى والفارغ في موقع **أنبوب المكتبة** (رقم 8) لخرطوشة العنقود.

يجب أن يكون أنبوب المكتبة الفارغ موجودًا من أجل فحص نظام تحديد الهوية بموجات الراديو (RFID) وخلط الكاشف المدمج بالجهاز. لم يتم التحقق من صحة الكود الشريطي لأنبوب المكتبة عند مطابقته بالكود الشريطي المحدد في ملف نظام إدارة المعلومات المختبرية (LIMS). تم التحقق من صحة تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID) للتأكد من عدم استخدام الأنبوب.

الشكل 20 أنبوب المكتبة غير المغطى المُحمّل في الموقع رقم 8



الفصل 6 التسلسل

إعداد عملية تشغيل التسلسل 45
مراقبة تقدم عملية التشغيل 51
البدء المتدرج لعمليات التشغيل 52
حذف عملية التشغيل 52
موقع الفصل رقم 30 53
غسيل ما بعد التشغيل التلقائي 53

إعداد عملية تشغيل التسلسل

توصي Illumina بأن تظل مسجلًا للدخول أثناء تشغيل برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) وعندما يكون التسلسل قيد التقدم.

1 أزل أي عناصر موجودة على سطح الجهاز.

حافظ على خلو السطح خلال إجراء عملية تشغيل التسلسل، وتجنب الاتكاء على الجهاز. يمكن أن يتسبب الضغط على باب خلية التدفق في فتحه، مما يوقف عملية التشغيل. لا يمكن استئناف عمليات التشغيل المتوقفة.

ملاحظة

يتم دعم البدء المتدرج لعمليات التشغيل الجديدة. يشير مؤقت البدء المتدرج في الوقت الذي يمكن بدء التشغيل المتدرج فيه. للحصول على مزيد من المعلومات، راجع *البدء المتدرج لعمليات التشغيل* في الصفحة 52.

2 من الشاشة الرئيسية، حدد **Sequence (تسلسل)**، ثم حدد تشغيل خلية تدفق واحدة أو مزدوجة:

- **A+B**—إعداد تشغيل خلية تدفق مزدوجة.
- **A**—إعداد تشغيل خلية تدفق واحدة على الجانب A.
- **A**—إعداد تشغيل خلية تدفق واحدة على الجانب B.

يبدأ البرنامج سلسلة من شاشات إعداد عملية التشغيل، بدءًا بالتحميل.

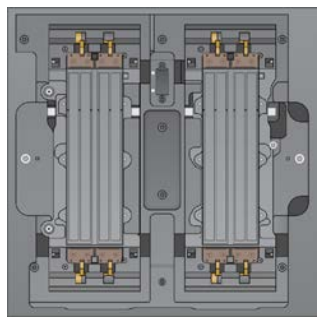
3 حدد **OK (موافق)** للإقرار بقراءة التحذير، وافتح باب خلية التدفق.

تحميل خلية التدفق في الجهاز

1 أزل خلية التدفق من عملية التشغيل السابقة، إن وجدت.

2 إذا كانت الجسيمات مرئية على منصة خلية التدفق، فقم بتنظيف المنصة بأكملها، بما في ذلك سطح التقاء السوائل والسطح الزجاجي لمُحدد المنظر الخاص بالمحاذاة البصرية باستخدام منديل كحولي. ثم قم بتجفيفها بمنديل خالٍ من الوبر.

الشكل 21 منصة خلية التدفق



3 **[سير العمل القياسي]** قم بإزالة خلية التدفق من العبوة على النحو التالي.

a ارتدِ زوجًا جديدًا من القفازات الخالية من المساحيق لتجنب حدوث تلوث للسطح الزجاجي الخاص بخلية التدفق.
b أثناء وضع الحزمة على سطح مستوٍ، قم بتقشير الرقاقة لفتحها من لسان الزاوية.
c أزل المثبت البلاستيكي الشفاف الذي يغطي خلية التدفق.
d أزل خلية التدفق من الحزمة. أمسك خلية التدفق من الجانبين لتجنب لمس الزجاج أو مانعات تسرب الجانب السفلي.

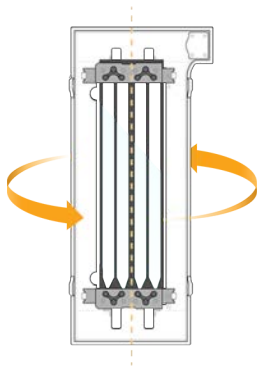
e إذا كانت الجسيمات مرئية على أي من الأسطح الزجاجية، فقم بتنظيف السطح القابل للتطبيق باستخدام منديل كحولي خالٍ من الوبر وتجفيفه باستخدام منديل مختبر قليل الوبر.
f تخلص من الحزمة بشكل مناسب.

ملاحظة
تعتبر بعض الخدوش وغيرها من العيوب الشكلية البسيطة على خلية التدفق طبيعية ولا تؤثر على جودة البيانات.

4 **[سير عمل NovaSeq Xp]** قم بتفريغ خلية التدفق من الحوض على النحو التالي.

a افتح المشبك الذي يثبت خلية التدفق والمشعب.
b قم بإزالة المشعب والتخلص منه بعناية دون السماح للسائل بالتقطير على خلية التدفق.
c إذا كان السائل يقطر على خلية التدفق، فقم بتنظيفه باستخدام منديل كحولي خالٍ من الوبر وتجفيفه باستخدام منديل مختبر خالٍ من الوبر.
d أمسك جانبي خلية التدفق لإزالتها من الحوض. حافظ على مستوى خلية التدفق.
e إذا كانت هناك مواد متبقية على موانع التسرب، فنظّف موانع التسرب لخلايا التدفق الأربعة باستخدام منديل خالٍ من الوبر للتجفيف. لا تلمس موانع التسرب.
f قم بعكس اتجاه خلية التدفق حول المحور الطولي بحيث يكون السطح العلوي متجهًا لأعلى.

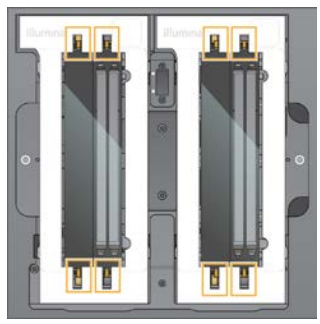
الشكل 22 عكس اتجاه خلية التدفق حول المحور الطولي



g قبل إعادة الحوض إلى التخزين، افحصه وتأكد من خلوه من الجسيمات.

5 قم بمحاذاة خلية التدفق أعلى المشابك الأربعة المرفوعة، ثم ضعها على منصة خلية التدفق.

الشكل 23 محاذاة خلايا التدفق المحمّلة أعلى المشابك



6 حدد **Close Flow Cell Door (إغلاق باب خلية التدفق)**.
يتم إغلاق باب خلية التدفق، ثم يتم التحقق من أجهزة الاستشعار وقارئ تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID)، ويظهر معرّف خلية التدفق على الشاشة.

تحميل خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود

ملاحظة

بالنسبة لسير عمل NovaSeq Xp، قبل تحميل خرطوشة العنقود، تأكد من تحميل أنبوب المكتبة الفارغ وغير المغطى في الخرطوشة.

1 افتح أبواب حجرة السائل، ثم افتح باب مبرّد الكاشف.

2 أزل خرطوشة SBS و خراطيش العنقود المستخدمة.
اخترقت الخراطيش المستعملة السدادات الرقيقة المعدنية.

3 تخلص من المحتويات غير المستخدمة وفقًا للمعايير المعمول بها.
للتخلص الآمن من موقع رقم 30 الخاص بخرطوشة العنقود، راجع *موقع الفصل رقم 30* في الصفحة 53.

4 قم بتحميل الخراطيش المجهّزة في درج مبرّد الكاشف بحيث تواجه ملصقات **الإدخال** الجهة الخلفية من الجهاز:
- ضع خرطوشة SBS (المحددة باللون الرمادي) في الموقع على اليسار.
- ضع خرطوشة العنقود (المحددة باللون البرتقالي) والتي تحتوي على أنبوب المكتبة غير المغطى في الموقع على اليمين.

الشكل 24 خراطيش الكاشف المحملة

5 حرّك الدرج إلى داخل المبرّد، ثم أغلق باب مبرّد الكاشف.
يتم فحص أجهزة الاستشعار ورقاقات تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID). تظهر معرّفات أنبوب المكتبة والخرطوشتان على الشاشة.

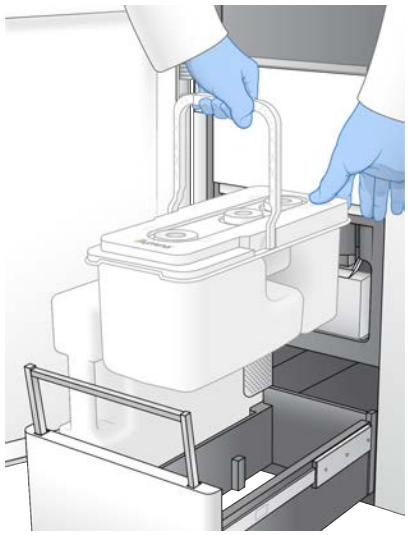
تحميل خرطوشة التخزين المؤقت

1 اسحب المقبض المعدني لفتح درج التخزين المؤقت.

2 أزل خرطوشة التخزين المؤقت المستخدمة من الجانب الأيمن لدرج التخزين المؤقت.
اخترقت خرطوشة التخزين المؤقت المستخدمة السدادات الرقيقة المعدنية.

3 ضع خرطوشة التخزين المؤقت الجديدة في درج التخزين المؤقت بحيث يواجه ملصق **Illumina** مقدمة الدرج. قم بمحاذاة الخرطوشة مع الموجهات المرفوعة في أرضية الدرج وجوانبه.
عند تحميلها بطريقة صحيحة، تصبح خرطوشة التخزين المؤقت مثبتة باتزان، ويمكن إغلاق الدرج.

الشكل 25 تحميل خرطوشة التخزين المؤقت



4 إذا تم إفراغ كلتا زجاجتي الكواشف المستخدمة، فحدد خانة الاختيار للتأكيد بأن زجاجتي الكاشف المستخدمتين فارغتان.

تحذير
يمكن أن يؤدي عدم إفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة إلى توقف عملية التشغيل وحدوث فائض، مما يتسبب في تلف الجهاز ويشكل خطرًا على السلامة.

5 حدد الزر المتاح:

- **Log In (تسجيل الدخول)**—يفتح شاشة Log In (تسجيل الدخول) لتسجيل الدخول إلى مركز تسلسل BaseSpace. تابع *تسجيل الدخول إلى مركز تسلسل BaseSpace*.
- **Run Setup (إعداد التشغيل)**—يتجاوز مركز التسلسل BaseSpace ويفتح شاشة إعداد التشغيل لإدخال معلمات التشغيل. تابع *إدخال معلمات التشغيل* في الصفحة 49.

يتم تحديد الزر المتاح بناءً على ما إذا تمت تهيئة النظام لمركز تسلسل BaseSpace.

تسجيل الدخول إلى مركز تسلسل BaseSpace

عند فتح برنامج تحكم NovaSeq (NVCS)، يتم تحديد مجموعة العمل الافتراضية الخاصة بك من مركز تسلسل BaseSpace كمجموعة العمل الخاصة بك. إذا لم تحدد مجموعة عمل افتراضية، فسيتم تحديد مجموعة العمل الشخصية الخاصة بك.

1 **[اختياري]** تحديث إعدادات مركز تسلسل BaseSpace لعملية لتشغيل الحالية:

- لتعطيل مركز تسلسل BaseSpace، قم بإلغاء تحديد خانة اختيار **BaseSpace Sequence Hub (مركز تسلسل BaseSpace)** ثم حدد **Run Setup (إعداد التشغيل)** للمتابعة بدون تسجيل الدخول.
- لإرسال بيانات التشغيل إلى مركز تسلسل BaseSpace لإجراء مراقبة عن بعد وتحليل البيانات، حدد **Run Monitoring and Storage (مراقبة التشغيل والتخزين)**. يتطلب هذا الخيار ورقة عينة.
- لإرسال ملفات InterOp وruninfo.xml وrunParameters.xml إلى مركز تسلسل BaseSpace لمراقبة عملية التشغيل عن بعد، حدد **Run Monitoring Only (مراقبة التشغيل فقط)**.

2 أدخل اسم المستخدم الخاص بمركز تسلسل BaseSpace وكلمة المرور، ثم حدد **Sign In (تسجيل الدخول)**.

3 حدد مجموعة عمل لتحميل بيانات عملية التشغيل إليها، ثم حدد **Run Setup (إعداد التشغيل)**، إذا طُلب منك ذلك.
لن يُطلب منك ذلك إلا إذا كنت عضوًا في مجموعات عمل متعددة.

إدخال معلمات التشغيل

1 إذا تم تمكين سير عمل NovaSeq Xp، فحدد نوع سير العمل.
- إذا قمت بتحديد **NovaSeq Xp**، فتأكد من تحميل أنبوب مكتبة فارغ.
- إذا قمت بتحديد **NovaSeq Standard (NovaSeq القياسي)**، فتأكد من تحميل العينة في أنبوب المكتبة.

2 في حقل Run Name (اسم عملية التشغيل)، أدخل الاسم الذي تريده لتحديد عملية التشغيل الحالية.
يمكن أن يحتوي اسم عملية التشغيل على أحرف أبجدية رقمية، ووصلات، وشرط سفلية.

3 أدخل عدد الدورات لكل قراءة وطول مؤشر في عملية تشغيل التسلسل.
لا يوجد حد أقصى لعدد دورات المؤشر، ولكن يجب أن يكون مجموع دورات القراءة ودورات المؤشرات أقل من عدد دورات المجموعة.
- **قراءة رقم 1**—أدخل قيمة تصل إلى 151 دورة لمجموعات 300 دورة، أو قيمة تصل إلى 251 دورة لمجموعات 500 دورة.
- **مؤشر رقم 1**—أدخل عدد الدورات المطلوبة لمشرع المؤشر رقم 1 (i7).
- **مؤشر رقم 2**—أدخل عدد الدورات المطلوبة لمشرع المؤشر رقم 2 (i5).
- **قراءة رقم 2**—أدخل قيمة تصل إلى 151 دورة لـ 300 مجموعة دورات، أو قيمة تصل إلى 251 دورة لـ 500 مجموعة دورات. عادةً ما تكون هذه القيمة هي قيمة القراءة رقم 1 نفسها.

ملاحظة

يقل عدد الدورات التي تم تحليلها في القراءة رقم 1 والقراءة رقم 2 بمقدار دورة واحدة من القيمة التي تم إدخالها. على سبيل المثال، لإجراء تشغيل 150 دورة ذات نهاية مزدوجة الطرفين (عملية تشغيل 2 × 150 زوجًا قاعديًا)، أدخل قيمة 151 دورة للقراءة رقم 1 والقراءة رقم 2.

يمكن أن يتجاوز مجموع القيم الأربعة التي تم إدخالها العدد الموضح لدورات مجموعة الكاشف المحددة بمقدار يصل إلى 23 دورة لعمليات التشغيل ذات النهاية مزدوجة الطرفين، و30 دورة لعمليات التشغيل ذات القراءة المفردة.

4 قم بتوسيع **Advanced Options (الخيارات المتقدمة)** لتطبيق الإعدادات على عملية التشغيل الحالية.
تُعد هذه الإعدادات اختيارية ما لم يرد خلاف ذلك.
- **المشرع المخصص**—حدد خانة اختيار **المشرع المخصص** ثم حدد خانات الاختيار المناسبة:
  - **قراءة رقم 1**—استخدم مشرعًا مخصصًا للقراءة رقم 1.
  - **Read 2 (قراءة رقم 2)**—استخدم مشرعًا مخصصًا للقراءة رقم 2.
  - **فهرس مخصص**—استخدم مشرعًا مخصصًا للفهرس رقم 1.
- **مجلد الإخراج**—حدد **تصفح** لتغيير مجلد الإخراج الخاص بالتشغيل الحالي. يلزم وجود مجلد إخراج عندما لا يكون التشغيل متصلاً بمركز تسلسل BaseSpace للتخزين.
- **Samplesheet (ورقة العينة)**—حدد **Browse (تصفح)** لتحميل ورقة عينة، والتي تكون ضرورية عند استخدام مركز تسلسل BaseSpace لتشغيل المراقبة والتخزين، أو ملف CSV آخر. يتم نسخ ملف CSV لمجلد الإخراج ولا يؤثر على معلمات التشغيل.
- **Custom Recipe (طريقة استخدام مخصصة)**—حدد **Custom Recipe (طريقة استخدام مخصصة)**، ثم **Browse (تصفح)** لاستخدام طريقة الاستخدام المخصصة بتنسيق XML لعملية التشغيل تلك.

ملاحظة

تعديل خطوات العنقدة في طريقة الاستخدام المخصصة غير مدعوم.

5 حدد **Review (مراجعة)**.
يؤكد البرنامج أن المعلمات المحددة مناسبة لطريقة الاستخدام المخصصة.

تأكيد معلمات التشغيل

1 قم بتأكيد معلمات التشغيل المعروضة على شاشة المراجعة.

2 **[اختياري]** حدد **Back (رجوع)** للعودة إلى شاشة Run Setup (إعداد التشغيل) وتحرير معلمات التشغيل.

3 حدد **Start Run (بدء التشغيل)**.
يتم بدء عمليات تحقق ما قبل التشغيل تلقائيًا.

مراجعة فحوصات ما قبل عملية التشغيل

1 انتظر حوالي 5 دقائق لاستكمال فحص ما قبل عملية التشغيل.
تبدأ عملية التشغيل تلقائيًا بعد نجاح اكتمال الفحوصات.

ملاحظة
لتجنب ملء محرك القرص الثابت، لا تنسخ أي بيانات إلى C:\ بعد بدء عملية التشغيل.

2 في حال تعذر إجراء فحوصات ما قبل التشغيل بسبب خطأ في جهاز الاستشعار، مثل عدم اكتشاف خلية تدفق، يجب عليك الخروج وإعادة تشغيل سير العمل.

3 وبالنسبة للحالات الأخرى لفشل فحوصات ما قبل التشغيل، حدد **Retry (إعادة المحاولة)** لإعادة بدء عملية الفحص غير الناجحة أو حدد **Retry All (إعادة محاولة الكل)** لإعادة بدء الفحوصات كلها.
يلزم حلّ الأخطاء قبل أن تبدأ عملية التشغيل. راجع *أخطاء الفحص ما قبل التشغيل* في الصفحة 59 للحصول على معلومات بشأن اكتشاف الأخطاء وإصلاحها.

4 حدد أيقونة **Error (خطأ)** لمراجعة تفاصيل الخطأ.

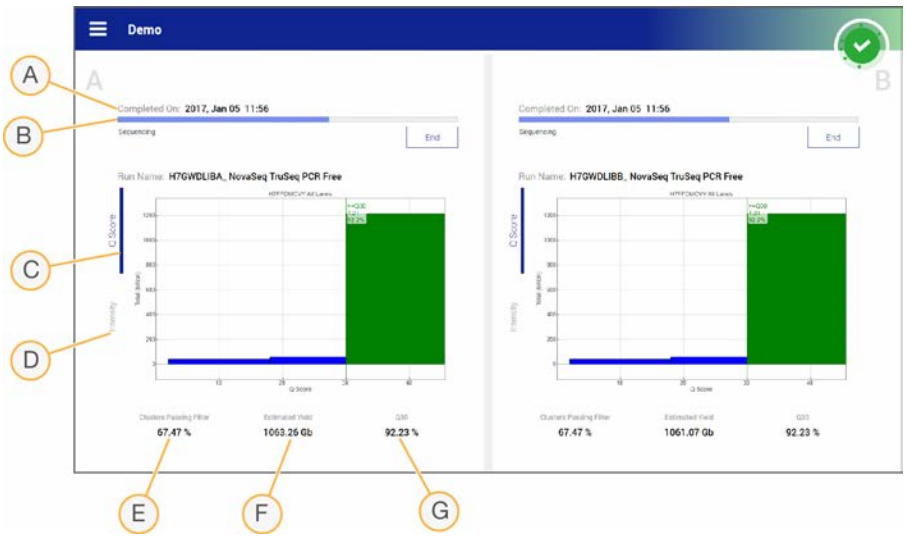
5 في حالة فشل فحص المحاذاة، قم بمعالجة الخطأ كما يلي.

a حدد **Reload (إعادة تحميل)**، ثم حدد **OK (موافق)** لتأكيد العودة إلى شاشة Load (التحميل).
b قم بإزالة أي عناصر من أعلى الجهاز ثم حدد **OK (موافق)**.
c أعد تحميل خلية التدفق، ثم حدد **Run Setup (إعداد التشغيل)**.
d قم بالمتابعة من خلال كل شاشة لإعادة قراءة كل رقاقة تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID) والعودة إلى شاشة Pre-Run Checks (فحوصات ما قبل عملية التشغيل).
e قم بإعادة الفحص.

مراقبة تقدم عملية التشغيل

1 قم بمراقبة تقدّم عملية التشغيل، والكثافات ودرجات الجودة على شكل مقاييس تظهر على الشاشة.
للاطلاع على المزيد من المعلومات حول مقاييس عملية التشغيل، راجع *التحليل في الوقت الفعلي* في الصفحة 63.

الشكل 26 تقدم تشغيل التسلسل ومقاييسه



A **وقت الانتهاء**—تاريخ انتهاء عملية التشغيل ووقته (سنة-شهر-يوم ساعة:دقيقة).
B **تقدّم عملية التشغيل**—خطوة عملية التشغيل الحالية. لا يتناسب شريط مُعدّل التقدم مع معدّل التشغيل لكل خطوة.
C **درجات الجودة**—توزيع درجات الجودة (سجل الجودة).
D **الكثافة**—قيمة كثافات العنقود في النسبة المئوية التسعين لكل شريحة. تشير ألوان المخطط إلى القناة الحمراء والقناة الخضراء.
E **مرور العناقيد من الفلتر (%)**—النسبة المئوية لمرور العناقيد من الفلتر.
F **النتيجة المقدرة (جيجابايت)**—عدد القواعد المتوقعة لعملية التشغيل.
G **Q30**—نسبة الاستدعاءات الأساسية لعملية التشغيل التي تتمتع بدرجة جودة ≥ 30.

ملاحظة

في حال بدء عملية إيقاف التشغيل أو إعادة التشغيل أثناء تشغيل برنامج تحكم NovaSeq (NVCS)، يجب على المستخدم تأكيد هذا الإجراء قبل إمكانية المتابعة في إيقاف التشغيل أو إعادة التشغيل.

مقاييس التشغيل

يعرض البرنامج المقاييس التي تم إنشاؤها خلال عملية التشغيل. تظهر المقاييس على هيئة مخططات ورسوم بيانية وجداول بناءً على البيانات التي تم إنشاؤها بواسطة التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) والمكتوبة في ملفات InterOp.

تستغرق العنقدة حوالي ساعتين، ثم يبدأ التسلسل مع دورة رقم 1. يتم تحديث المقاييس كلما تقدم التسلسل. تتوفر العناقيد التي تمر من الفلتر، والنتيجة، ودرجات الجودة بعد الدروة رقم 26.

حالة المعالجة

تقوم شاشة Process Management (إدارة المعالجة) بإدراج حالة كل عملية تشغيل. من Main Menu (القائمة الرئيسية)، حدد **Process Management (إدارة العملية)**.

تقوم Process Management (إدارة المعالجة) بإدراج الحالة لحالات المعالجة التالية لكل اسم عملية تشغيل:

- **Run Status (حالة التشغيل)**—وفقًا لمعالجة ملفات الاستدعاء الأساسي المتسلسلة CBCL.
- **Network (الشبكة)**—وفقًا لنقل الملف باستخدام خدمة النسخ العالمية.

المستند رقم 1000000019358 إصدار 11 ARA المادة رقم 20023471
للاستخدام البحثي فقط. لا يستخدم في الإجراءات التشخيصية.

- **BaseSpace**—وفقًا لتحميل الملف في مركز تسلسل BaseSpace، إذا ما كان ذلك ممكنًا.

عند اكتمال المعالجة، تظهر علامة اختيار خضراء. للحصول على المزيد من المعلومات، راجع *إدارة العملية* في الصفحة 7.

البدء المتدرج لعمليات التشغيل

يمكنك إعداد التشغيل وبدؤه على الجانب الخامل للجهاز بينما تكون عملية التشغيل قيد التقدم على الجانب الآخر، وهو ما يُسمى بالبدء المتدرج. يتم إعداد عمليات التشغيل المتدرجة في أوقات محددة أثناء التشغيل، كما هو موضح في الحالات التالية لمؤقت بدء العد التنازلي.

- **بدء التشغيل: متاح**—البدء المتدرج متاح في الوقت الحالي. يشير التاريخ والوقت إلى الموعد الذي سيكون فيه البدء المتدرج غير متاح. حدد **Sequence (التسلسل)** لبدء عملية تشغيل متدرجة جديدة بعد اكتمال الدورة الحالية.
- **بدء التشغيل: غير متاح**—البدء المتدرج غير متاح في الوقت الحالي. يشير التاريخ والوقت الموجودان على الجانب الآخر من الجهاز إلى الوقت الذي سيكون فيه البدء المتدرج متاحًا.
- **انتظار...**—عند محاولة إجراء عملية تشغيل جديدة في وقت عدم توفر البدء المتدرج، تتغير الحالة إلى Waiting (انتظار) ويشير التاريخ والوقت إلى الوقت التقريبي الذي يستغرقه الجهاز حتى يكون جاهزًا للقيام بعملية تشغيل جديدة. سيتابع الجهاز إعداد عملية التشغيل عندما يتوفر البدء المتدرج.

عندما تقوم بإعداد عملية التشغيل الجديدة، يقوم البرنامج تلقائيًا بإيقاف التشغيل مؤقتًا واستئناف تشغيله على خلية التدفق المجاورة حسب الحاجة. يتم وضع النظام في حالة آمنة عند التوقف المؤقت.

الإجراء

1 من Home screen (الشاشة الرئيسية)، حدد **Sequence (تسلسل)**، ثم حدد **A** أو **B**.
يجب أن يكون الجانب المحدد في وضع الخمول حاليًا.

2 انتظر توقف عملية التشغيل في خلية التدفق المجاورة. لإلغاء عملية التشغيل الجديدة ومنع التوقف، حدد **Cancel (إلغاء)**.
في حالة إجراء عملية التشغيل المجاورة لكلٍ من إنشاء العنقود، أو إعادة التخليق ذي النهاية مزدوجة الطرفين، أو التصوير، أو الغسيل، يُكمل البرنامج الخطوة الحالية قبل التوقف المؤقت.

3 عند توقف عملية التشغيل المجاورة مؤقتًا وفتح باب خلية التدفق، قم بإعداد عملية التشغيل الجديدة.
عند بدء عملية التشغيل الجديدة، يتم استئناف عملية التشغيل الموقوفة تلقائيًا ثم تبدأ عملية التشغيل الجديدة.

حذف عملية التشغيل

بعد اكتمال نقل البيانات، يمكنك حذف عملية التشغيل الحالية من Process Management (إدارة العمليات) لتوفير مساحة من أجل عملية التشغيل التالية. حذف عملية التشغيل يتسبب في مسح محرك الحساب (CE) وC:\ دون إزالة ملفات صيانة النظام، أو التأثير على الشبكة، أو التأثير على نسخ مركز تسلسل BaseSpace. لا يمكن حذف عمليات التشغيل التي يجري تسلسلها.

1 من Main Menu (القائمة الرئيسية)، حدد **Process Management (إدارة العملية)**.

2 **[اختياري]** تأكد من عرض كل عملية متعلقة بالتشغيل لعلامة اختيار خضراء، والتي تشير إلى اكتمال نقل البيانات.
يمكنك حذف عملية التشغيل التي لم يكتمل نقلها إلى الشبكة أو مركز تسلسل BaseSpace، ولكنك ستفقد جميع بيانات عملية التشغيل.

3 حدد **Delete Run (حذف عملية التشغيل)**، ثم حدد **Yes (نعم)** للتأكيد.

4 حدد **Done (تم)**.

موقع الفصل رقم 30

يحتوي الخزان في الموقع رقم 30 لخرطوشة العنقود على مادة الفورماميد. تتم إزالتها من خرطوشة العنقود المستخدمة والتخلص منها بشكل منفصل.

تحذير

تحتوي هذه المجموعة من الكواشف على مواد كيميائية يُحتمل أن تكون خطرة. يمكن أن تحدث الإصابة الشخصية عن طريق استنشاق تلك المواد، وابتلاعها وملامستها للجلد والعين. ارتدِ معدات الحماية، بما في ذلك واقي العين، والقفازات، ومعطف المختبر المناسب لتجنب التعرض للمخاطر. تعامل مع الكواشف المستخدمة باعتبارها نفايات كيميائية وتخلّص منها وفقًا للقوانين واللوائح الإقليمية، والوطنية، والمحلية المعمول بها. للاطلاع على المعلومات البيئية والصحية والمتعلقة بالسلامة، راجع ورقة بيانات السلامة (SDS) على support.illumina.com/sds.html.

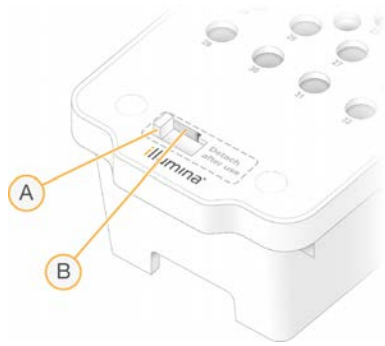
1 أثناء ارتداء القفازات، اضغط على المقبض البلاستيكي الأبيض المكتوب عليه **Detach after use (افصل بعد الاستخدام)** إلى الجانب الأيمن.

2 ضع يديك أو سطحًا صلبًا أسفل الخزان، واضغط على المقبض البلاستيكي الشفاف باتجاه ملصق Illumina لتحرير الخزان من أسفل خرطوشة العنقود.

ملاحظة

تجنب تكديس خراطيش العنقود عند التخزين. قد يؤدي التكديس إلى انفصال عرضي للخزان.

الشكل 27 موقع قابل للإزالة رقم 30



A مقبض بلاستيكي أبيض للفصل
B مقبض بلاستيكي شفاف للتحرير

3 تخلّص من الخزان وفقًا للمعايير المعمول بها.

غسيل ما بعد التشغيل التلقائي

عند اكتمال التسلسل، يبدأ البرنامج في إجراء غسيل تلقائي بعد التشغيل والذي يستغرق حوالي 80 دقيقة. يضخ النظام 0.24% من هيبوكلوريت الصوديوم (NaOCl) من موقع رقم 17 ويخففه إلى 0.12%. يتم ضخ 0.12% من هيبوكلوريت الصوديوم (NaOCl) إلى كاشف ExAmp ومواقع المكتبة، ومن خلال خلية التدفق، ثم إلى زجاجات الكاشف المستخدمة. يقوم الغسيل بغسل القالب من النظام لمنع انتقال التلوث.

عند اكتمال عملية الغسيل، يتم وضع النظام في حالة آمنة ويُصبح زر الصفحة الرئيسية نشطًا. دع المستهلكات في مكانها حتى موعد التشغيل المقبل. بعد الغسيل، ستبقى أكواب الشفط في خرطوشة SBS وخرطوشات العنقود لمنع الهواء من الدخول في النظام. يتم رفع أكواب الشفط الموجودة في خرطوشة التخزين المؤقت للتمكن من تفريغ زجاجات الكاشف المستخدمة.

ملاحظة

إذا حدث خطأ أثناء غسيل ما بعد التشغيل التلقائي، وكانت عملية غسيل ما بعد التشغيل غير مكتملة، يلزم إجراء إحدى عمليات غسيل الصيانة.

المستند رقم 1000000019358 إصدار 11 ARA المادة رقم 20023471
للاستخدام البحثي فقط. لا يستخدم في الإجراءات التشخيصية.

الفصل 7 الصيانة

الصيانة الوقائية 54
إجراء غسيل الصيانة 54
تحديثات البرنامج 57

الصيانة الوقائية

توصيك شركة Illumina بأن تقوم بجدولة خدمة صيانة وقائية سنويًا. إذا لم تكن متعاقدًا بالخدمة، فاتصل بمدير الحساب في منطقتك أو الدعم الفني لشركة Illumina لترتيب خدمة صيانة وقائية مدفوعة.

إجراء غسيل الصيانة

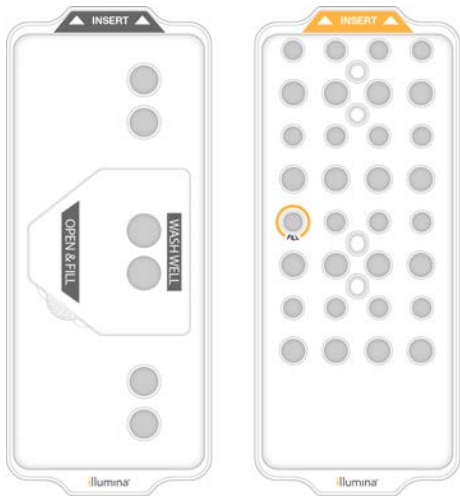
يطالب البرنامج بإجراء عملية غسيل الصيانة في الأوقات التالية:

- عندما لا يكون هناك تشغيل ذو أربعة ممرات مع إحدى عمليات الغسيل التي تلي عملية التشغيل في الـ 14 يومًا الأخيرة
- إذا لم يتم إجراء إحدى عمليات غسيل صيانة خلال الـ 14 يومًا الأخيرة
- عندما تفشل إحدى عمليات الغسيل التي تلي عملية التشغيل أو تكون غير مكتملة.

يقوم غسيل الصيانة بغسل النظام بالمحلول المخفف الذي يوفره المستخدم من Tween 20 وهيبوكلوريت الصوديوم NaOCl. يتم ضخ المحاليل المخففة من خراطيش الغسيل إلى خلية التدفق، وزجاجات الكاشف المستخدم، وجميع خزانات الخراطيش لغسيل جميع أكواب الشفط. يستغرق الغسيل حوالي 80 دقيقة.

يتطلب غسيل الصيانة وجود خرطوشة تخزين مؤقت مستخدمة وخرطوشة غسيل SBS، وخرطوشة غسيل عنقود، وخلية تدفق غسيل ذات أربعة ممرات يتم توفيرها مع الجهاز (أو خلية تدفق ذات أربعة ممرات مستخدمة). كما أن خراطيش الغسيل مميزة بالألوان، وذلك مثل خراطيش الكواشف، لمنع حدوث أخطاء في التحميل. تحتوي خرطوشة غسيل SBS على مَجمع مركزي خاص بتخفيف Tween 20. يتم إضافة محلول هيبو كلوريت الصوديوم (NaOCl) المخفف إلى الخزان في خرطوشة غسيل العنقود.

الشكل 28 خرطوشة غسيل SBS (يسار) وخرطوشة غسيل العنقود (يمين)



تحضير محلول الغسيل

1 أضف 400 مللي من الماء عالي الجودة وفقًا لمعايير المختبرات إلى 500 مللي من زجاجة الطرد المركزي.

2 أضف 0.2 مللي بنسبة 100% من Tween 20 ليُنتج 400 مللي بنسبة 0.05% من محلول الغسيل Tween 20 على الأقل.
يحدّ استخدام محلول Tween 20 المخفف المُعدّ حديثًا من دخول الملوثات العضوية إلى نظام السوائليات.

3 قم بالقلب لإجراء الخلط.

4 قم بإزالة الغطاء من المَجمع المركزي الخاص بخرطوشة الغسيل SBS.

5 أضف محلول الغسيل إلى المَجمع المركزي. قم بالملء إلى خط الملء، والذي يشير إلى الحدّ الأدنى من الحجم المطلوب.
تظلّ الخزّانات الأخرى فارغة.

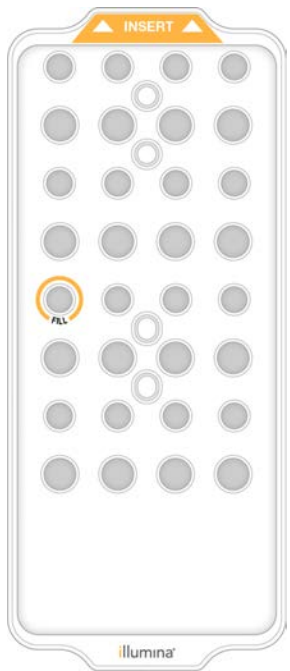
الشكل 29 مَجمع مركزي تم ملؤه إلى خط ملء الحد الأدنى من الحجم

6 قم بدمج الأحجام التالية في أنبوبة طرد مركزي 30 مللي لتحضير 20 مللي من 0.25% هيبوكلوريت الصوديوم:
- 5% من هيبوكلوريت الصوديوم (1 مللي)
- ماء منزوع الأيونات (19مللي)

7 قم بالقلب لإجراء الخلط.

8 أضف 5 مللي من 0.25% هيبوكلوريت الصوديوم إلى خرطوشة غسيل العنقود.
يتم وضع علامة Fill (ملء) على الموقع وتظهر دائرة برتقالية حوله. تظل جميع الخزانات الأخرى فارغة.

الشكل 30 موقع لنسبة 0.25% من هيبوكلوريت الصوديوم



قم بتحميل خلية تدفق الغسيل

1 أزل أي عناصر موجودة على سطح الجهاز.
حافظ على خلو السطح خلال إجراء غسيل الصيانة، وتجنب الاتكاء على الجهاز. قد يؤدي الضغط على باب خلية التدفق إلى فتحه، ومن ثمّ توقف الغسيل.

المستند رقم 1000000019358 إصدار 11 ARA المادة رقم 20023471
للاستخدام البحثي فقط. لا يستخدم في الإجراءات التشخيصية.

2 من الشاشة الرئيسية، حدد **Wash (غسيل)**، ثم حدد الجانب الذي تريد غسله:
- **A+B**—غسل كلا الجانبين في آن واحد.
- **A**—غسل الجانب A فقط.
- **B**—غسل الجانب B فقط.

يُظهر البرنامج سلسلة من شاشات الغسيل.

ملاحظة

لا يمكن بدء غسيل الصيانة لجانب واحد إلا عندما يكون الجانب الآخر إما في وضع الخمول وإما يقوم بإجراء دورات قراءة التسلسل من خلال التوليف SBS. يشير وقت البدء المتدرج في برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) إلى استعداد الجهاز لبدء عملية تشغيل أو غسيل جديد. راجع *البدء المتدرج لعمليات التشغيل* في الصفحة 52.

3 حدد **OK (موافق)** للإقرار بقراءة التحذير، وافتح باب خلية التدفق.

4 إذا لم توجد بالفعل خلية تدفق غسيل، أو خلية تدفق مستخدمة ذات أربعة ممرات، فحمّل واحدة.

5 حدد **Close Flow Cell Door (إغلاق باب خلية التدفق)**.
يتم إغلاق الباب، ويتم التحقق من أجهزة الاستشعار وقارئ تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID)، ويظهر معرّف خلية التدفق على الشاشة.

تحميل خراطيش الغسيل

يلزم استخدام خراطيش الغسيل من أجل إجراء غسيل الصيانة. لا تستخدم خرطوشة SBS وخراطيش العنقود المستخدمة.

1 افتح أبواب حجرة السائل، ثم افتح باب مبرّد الكاشف.

2 أزل خرطوشة SBS و خراطيش كاشف العنقود المستخدمة. تخلص من المحتويات غير المستخدمة وفقًا للمعايير المعمول بها. للتخلص الآمن من موقع رقم 30 الخاص بخرطوشة العنقود، راجع *موقع الفصل رقم 30* في الصفحة 53.

3 قم بتحميل خراطيش الغسيل في درج مبرّد الكاشف بحيث تواجه ملصقات **الإدخال** الجهة الخلفية من الجهاز:
- ضع خرطوشة SBS (المحددة باللون الرمادي) في الموقع على اليسار.
- ضع خرطوشة العنقود (المحددة باللون البرتقالي) في الموقع على اليمين.

4 حرّك الدرج إلى داخل المبرّد، ثم أغلق باب مبرّد الكاشف.
تم التحقق من أجهزة الاستشعار، وفحص رقاقة تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID) لكل خرطوشة وعرضها على الشاشة.

5 افتح درج التخزين المؤقت.

6 إذا لم يكن موجودًا بالفعل، فقم بتحميل خرطوشة التخزين المؤقت المستخدمة.

إفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة

اتبع التعليمات التالية لإفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة مع **كل** غسيل صيانة. حتى إذا تمت تهيئة نظامك لتوجيه الكواشف المستخدمة خارجيًا، فإن الزجاجة الصغيرة تجمع الكواشف المستخدمة ويجب أن تكون الزجاجة الكبيرة في مكانها.

تحذير

تحتوي هذه المجموعة من الكواشف على مواد كيميائية يُحتمل أن تكون خطرة. يمكن أن تحدث الإصابة الشخصية عن طريق استنشاق تلك المواد، وابتلاعها وملامستها للجلد والعين. ارتدِ معدات الحماية، بما في ذلك واقي العين، والقفازات، ومعطف المختبر المناسب لتجنب التعرض للمخاطر. تعامل مع الكواشف المستخدمة باعتبارها نفايات كيميائية وتخلص منها وفقًا للقوانين واللوائح الإقليمية، والوطنية، والمحلية المعمول بها. للاطلاع على المعلومات البيئية والصحية والمتعلقة بالسلامة، راجع ورقة بيانات السلامة (SDS) على support.illumina.com/sds.html.

1 قم بإزالة زجاجة الكاشف الصغيرة المستخدمة وتخلص من المحتويات وفقًا للمعايير المعمول بها. احفظ المحتويات بعيدًا عن محتويات الزجاجات الأخرى.

2 قم بإعادة حاوية الكاشف الصغيرة المستخدمة إلى الفجوة.

3 قم بإزالة زجاجة الكاشف الكبيرة المستخدمة وتخلص من المحتويات وفقًا للمعايير المعمول بها.

4 قم بإعادة زجاجة الكاشف الكبيرة المستخدمة إلى درج التخزين المؤقت.

5 ارتدِ زوجًا جديدًا من القفازات الخالية من المساحيق.

6 أغلق درج التخزين المؤقت، ثم أغلق أبواب حجرة السائل.
يتم فحص أجهزة الاستشعار ورقاقات تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID). يظهر المعرف الخاص بكل مكونات الغسيل على الشاشة.

بدء الغسيل

1 حدد خانة الاختيار للتأكيد بأن زجاجتي الكاشف المستخدمتين فارغتان، ثم حدد **Start Wash (بدء الغسيل)**.
يبدأ الغسيل ويظهر الوقت المقدر لاكتمال الغسيل.

تحذير
يمكن أن يؤدي عدم إفراغ زجاجات الكاشف المستخدمة إلى توقف الغسيل وحدوث فائض، مما يتسبب في تلف الجهاز ويشكل خطرًا على السلامة.

2 عند اكتمال الغسيل، حدد **Home (الصفحة الرئيسية)**.

3 دع المستهلكات في مكانها حتى حلول موعد عملية التشغيل المقبلة.
تبقى أكواب الشفط في خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود لمنع الهواء من الدخول في النظام. يتم رفع أكواب الشفط الموجودة في خرطوشة التخزين المؤقت حتى يمكن تفريغ زجاجات الكاشف المستخدمة.

تحديثات البرنامج

تتوفر تحديثات البرامج لبرنامج تحكم NovaSeq (NVCS) إصدار 1.4 أو الإصدارات الأحدث. يمكن تنزيل تحديثات البرنامج وتثبيتها من خلال برنامج تحكم NovaSeq (NVCS). يتم تمكين التحقق التلقائي من تحديثات البرنامج افتراضيًا. يمكنك تمكين التحديثات التلقائية أو تعطيلها من الإعدادات.

ملاحظة
يجب أن يكون NovaSeq 6000 متصلًا بشبكة الإنترنت للتحقق من تحديثات البرنامج وتنزيل التحديثات.

يتم تنفيذ التحقق التلقائي من التحديثات كل 24 ساعة. يتم عرض إشعار في Main Menu (القائمة الرئيسية) عند توفر أحد التحديثات. يكون إشعار التحديث مرئيًا لجميع المستخدمين، ولكن يمكن للمسؤول فقط تنزيل التحديثات وتثبيتها.

وفيما يتعلق بسير عمل NovaSeq Xp، تأكد من أن إصدار برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) يلبي الحد الأدنى من متطلبات البرامج المدرجة في الجدول التالي قبل البدء في تحضير العينات أو المستهلكات.

الجدول 20 الحد الأدنى لمتطلبات البرامج

خلية التدفق	الحد الأدنى من إصدار البرنامج
SP	1.6
S1	1.3.1
S2	الكل
S4	1.2.0

ملاحظة
لا يمكنك تحديث البرنامج إذا كان تشغيل التسلسل أو الغسيل أو إعداد التشغيل أو نقل الملفات إلى مجلد الإخراج أو إلى مركز تسلسل BaseSpace قيد التقدم. إذا كان سير عمل NovaSeq Xp قيد التقدم، فانتظر تحديث البرنامج حتى يتم تحميل المكتبات في خلية التدفق واكتمال التسلسل.

للبحث عن التحديثات يدويًا أو لتنزيل تحديث وتثبيته، قم بما يلي:

1 من Main Menu (القائمة الرئيسية)، حدد **Software Update (تحديث البرنامج)**.
يتم عرض شاشة Software Update (تحديث البرنامج)، التي توفر ملاحظات الإصدار للتحديث المتاح. إذا لم يتم تمكين التحقق التلقائي لتحديثات البرنامج، يمكنك التحقق من وجود تحديثات يدويًا أو تمكين التحقق التلقائي.

2 لتنزيل التحديث وتثبيته، حدد خانة الاختيار للإقرار بأن عملية التنزيل والتثبيت تستغرق حوالي 30 دقيقة.

3 حدد **Download and Install (تنزيل وتثبيت)**.

عند الانتهاء من التنزيل، يتم إغلاق برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) ويتم تشغيل المثبت. اتبع تعليمات المثبت لإكمال التثبيت. في حالة حدوث أخطاء أثناء التنزيل أو التثبيت، اتصل بالدعم الفني لشركة Illumina.

الملحق A استكشاف الأخطاء وإصلاحها

مصادر استكشاف الأخطاء وإصلاحها 59
ملفات استكشاف الأخطاء وإصلاحها 59
أخطاء الفحص ما قبل التشغيل 59
استكشاف الأخطاء الخاصة بإدارة العملية وإصلاحها 60
فشل عملية التشغيل قبل العنقدة 60
إنهاء عملية تشغيل 61
إيقاف تشغيل الجهاز 61

مصادر استكشاف الأخطاء وإصلاحها

للأسئلة الفنية، قم بزيارة صفحة الدعم الخاصة بنظام تسلسل NovaSeq 6000 على موقع شركة Illumina. توفر صفحة الدعم إمكانية الوصول إلى الوثائق والتنزيلات والأسئلة الشائعة. للوصول إلى نشرات الدعم، قم بتسجيل الدخول إلى حسابك في MyIllumina.

في حالة وجود مشكلات تتعلق بالأداء أو جودة عملية التشغيل، اتصل بالدعم الفني لشركة Illumina. راجع *المساعدة الفنية* في الصفحة 76. لتسهيل عملية اكتشاف الأخطاء وإصلاحها، يمكنك مشاركة رابط لملخص عملية التشغيل في مركز تسلسل BaseSpace مع الدعم الفني لشركة Illumina.

ملفات استكشاف الأخطاء وإصلاحها

الملف الأساسي	مجلد	الوصف
ملف معلومات التشغيل (RunInfo.xml)	مجلد الجذر	يحتوي على إعدادات عملية التشغيل: • عدد الدورات في عملية التشغيل • عدد القراءات في عملية التشغيل • إذا ما كانت القراءة مفهرسة • عدد القطاعات والشرائح في خلية التدفق
ملف معلمات التشغيل (RunParameters.xml)	مجلد الجذر	يحتوي على اسم عملية التشغيل ومعلومات عن معلمات التشغيل ومكونات التشغيل، بما في ذلك معلومات تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID) التالية: الأرقام التسلسلية، وأرقام المجموعة، وتاريخ انتهاء الصلاحية، وأرقام الكتالوج.
ملفات InterOp (*.bin)	InterOp	يتم استخدام ملفات التقرير الثنائية من أجل عارض تحليل التسلسل. يتم تحديث ملفات InterOp خلال عملية التشغيل.
ملفات السجل	السجلات	تصف ملفات السجل كل خطوة أجريت بواسطة الجهاز لكل دورة، بما في ذلك الكاشف الذي يتم استخدامه، وتسرد إصدارات البرامج والبرامج الثابتة المستخدمة في عملية التشغيل. الملف المسمى باسم [InstrumentName]_CurrentHardware.csv يُدرج الأرقام التسلسلية لمكونات الجهاز.

أخطاء الفحص ما قبل التشغيل

في حالة حدوث خطأ أثناء فحوصات ما قبل التشغيل، اتبع الإجراءات التالية لمعالجة الخطأ. إذا كنت تقوم بإعداد تشغيل خلية تدفق مزدوجة وحدث خلل في جانبٍ واحد، يمكنك إلغاء الجانب الذي حدث فيه الخلل والمتابعة باستخدام الجانب الذي تم تشغيله بنجاح.

عند فشل فحص ما قبل التشغيل، لن يتم غلق رقاقات تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID) الخاصة بخلية التدفق، والكواشف، والتخزين المؤقت للتمكن من استخدام المستهلكات من أجل إجراء عملية التشغيل التالية. عند بدء عملية التشغيل، تخترق أكواب الشفط السدادات الرقاقية الموجودة في خراطيش الكاشف ويتم غلق جميع رقاقات تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID).

التحقق من النظام	سبب الفشل	الإجراء الموصى به
أجهزة الاستشعار	يكون باب الحجرة مفتوحًا، أو لم يتم تحميل المستهلك بطريقة صحيحة، أو يوجد جهاز استشعار واحد على الأقل لا يقوم بوظيفته.	حدد **Retry (إعادة المحاولة)** واتبع التعليمات التي تظهر على الشاشة لمعالجة الخطأ.
مساحة القرص	مساحة القرص غير كافية بسبب امتلاء الموقع المحدد لمجلد الإخراج.	استخدم شاشة Process Management (إدارة العمليات) لمسح مساحة القرص من موقع مجلد الإخراج المحدد.
الاتصال بالنظام	تم قطع الاتصال بالتحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3)، أو نظام السوائليات، أو اتصالات أخرى.	حدد **Retry (إعادة المحاولة)** واتبع التعليمات التي تظهر على الشاشة لمعالجة الخطأ.
المحاذاة	يمنع موضع خلية التدفق من إجراء التصوير.	اتبع التعليمات التي تظهر على الشاشة لإعادة تحميل خلية التدفق.

صينية التسرب

يتم دمج صينية التسرب بقاعدة الجهاز والتي تعمل على جمع الكواشف أو مواد التبريد المسرّبة، وجمع الفائض من زجاجات الكواشف المستخدمة. في ظل الظروف الطبيعية، تكون صينية التسرب جافة. يشير التسريب إلى وجود مشكلة في الجهاز، ويحدث الفائض عندما لا يتم تفريغ زجاجات الكاشف المستخدمة بانتظام.

خلال إجراء الفحص ما قبل تشغيل الجهاز، تكشف أجهزة الاستشعار ما إذا تواجدت أي سوائل في صينية التسرب:

- إذا كانت صينية التسرب تحتوي على سوائل ولكنها غير ممتلئة، يمكن متابعة التشغيل، ولكن ينبغي التواصل مع الدعم الفني لشركة Illumina. راجع *المساعدة الفنية* في الصفحة 76.
- إذا كانت صينية التسرب ممتلئة بالسوائل، فلا يمكن متابعة عملية التشغيل، وينبغي التواصل مع الدعم الفني لشركة Illumina.

تحذير

أفرغ محتويات زجاجات الكواشف المستخدمة مع ***كل عملية تشغيل***. تتوقف عمليات التشغيل في حالة امتلاء أي من زجاجات الكاشف المستخدمة. يؤدي الفائض لأي من زجاجات الكاشف المستخدمة إلى تلف الجهاز، ويتطلب ذلك زيارة ممثل شركة Illumina للموقع، كما يشكل خطرًا على السلامة.

استكشاف الأخطاء الخاصة بإدارة العملية وإصلاحها

يقدم الجدول التالي خيارات استكشاف الأخطاء وإصلاحها لأيقونة N/A (غير متوفر) في شاشة Process Management (إدارة العملية):

- يتم عرض أيقونة N/A (غير متوفر) في عمود BaseSpace وتتم تهيئة عملية التشغيل للتحميل إلى مركز تسلسل BaseSpace.
- يتم عرض أيقونة N/A (غير متوفر) في عمود Network (الشبكة) وتتم تهيئة عملية التشغيل لتحميل مجلد الإخراج على الشبكة.

حالة عملية التشغيل	إجراء استكشاف الأخطاء وإصلاحها
عملية تشغيل قيد التقدم	أغلق شاشة Process Management (إدارة العملية)، وانتظر حوالي 5 دقائق، ثم أعد فتح الشاشة.
عملية التشغيل ليست قيد التقدم	قم بإيقاف تشغيل الجهاز وإعادة تشغيله، ثم أعد فتح شاشة Process Management (إدارة العملية).

إذا كان لا تزال تظهر أيقونة N/A (غير متوفر) بعد الانتهاء من إجراء استكشاف الأخطاء وإصلاحها، فاتصل بالدعم الفني لشركة Illumina. راجع *المساعدة الفنية* في الصفحة 76.

فشل عملية التشغيل قبل العنقدة

إذا توقف تشغيل البرنامج قبل بدء العنقدة، يمكنك الاحتفاظ بخراطيش الكاشف، وأنبوب المكتبة (بما في ذلك العينة)، وخلية التدفق في حال تمت إعادة استخدامها على الفور من أجل إجراء عملية تشغيل جديدة. عند بدء العنقدة، يتم نقل أكواب الشفط التي تخترق السدادات الرقاقية والكواشف إلى أنبوب المكتبة وخلية التدفق، لذلك لا يمكن استخدام المستهلكات والمكتبات في عملية تشغيل أخرى.

لديك خياران لإعداد عملية تشغيل جديدة باستخدام خراطيش الكاشف، وأنبوب المكتبة وخلية التدفق التي تم حفظها من عملية التشغيل غير الناجحة:

- **إعداد عملية تشغيل جديدة فورًا**—قم بإعداد عملية تشغيل جديدة في غضون 4 ساعات من التشغيل غير الناجح. تظل خراطيش الكاشف، وأنبوب المكتبة، وخلية التدفق محملة.

ملاحظة

للحصول على أفضل النتائج لسير عمل NovaSeq Xp، ابدأ عملية التشغيل الجديدة في أقرب وقت ممكن.

- **Set up a new run later (إعداد عملية تشغيل جديدة في وقت لاحق)**—قم بإعداد عملية تشغيل جديدة في غضون ثلاثة أسابيع من التشغيل غير الناجح. يتم تفريغ خراطيش الكاشف وأنبوب المكتبة من الجهاز ويتم تخزينها. تجب كتابة تاريخ المستهلكات المحفوظة عليها وتخزينها وفق الشروط الأصلية.

ملاحظة

لا يمكن إعادة استخدام خلية التدفق ويجب التخلص منها. اتصل بالدعم الفني لشركة Illumina للحصول على خلية تدفق بديلة.

إعداد عملية تشغيل جديدة على الفور

إذا كان التشغيل غير الناجح يستخدم سير عمل NovaSeq Xp، فابدأ عملية التشغيل الجديدة في أقرب وقت ممكن للحصول على أفضل النتائج.

1 في حال فشل عملية التشغيل وعندما يكون الجانب الآخر من الجهاز في وضع الخمول، قم بإعادة تشغيل الجهاز. بخلاف ذلك، حدد **Home (الصفحة الرئيسية)**.

2 قم بإعداد عملية تشغيل جديدة.

3 اترك خلية التدفق الحالية في موضعها.

4 افتح باب مبرد الكاشف ودرج التخزين المؤقت وأغلقهما لمطالبة برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) بإعادة قراءة رقاقات تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID) الخاصة بخرطوشة الكاشف.
يمكن أن تظل الخراطيش وأنبوب المكتبة، وخلية التدفق في الجهاز لمدة تصل إلى 4 ساعات بعد التشغيل غير الناجح.

5 أفرغ زجاجات الكاشف المستخدمة، إذا لزم الأمر، وقم بإعادتها للجهاز.

6 تابع إعداد عملية التشغيل.

إعداد عملية تشغيل جديدة لاحقًا

1 في حالة فشل عملية التشغيل، حدد **Home (الصفحة الرئيسية)**.

2 قم بإعداد عملية تشغيل جديدة أو غسيل صيانة لتحرير المستهلكات من الجهاز.

3 أزل المستهلكات التالية وخزنها عند الطلب:
- قم بتغطية أنبوب المكتبة وتخزينه في درجات حرارة من -25 إلى -15 درجة مئوية لمدة تصل إلى ثلاثة أسابيع.
- قم بإعادة خرطوشة SBS وخرطوشة العنقود للتخزين في درجة حرارة من -25 درجة مئوية إلى -15 درجة مئوية.
- قم بإعادة خرطوشة التخزين المؤقت إلى التخزين في درجة حرارة الغرفة على أن تكون محمية من الضوء.

يُمكن إعادة استخدام الخرطوشة في عملية تشغيل جديدة إذا لم يتم ثقبها.

4 حدد **End (إنهاء)** لإلغاء غسيل الصيانة أو عملية التشغيل، ثم حدد **Yes (نعم)** لتأكيد الأمر.
يمكنك السماح بإكمال غسيل الصيانة بدلًا من إلغائه.

إنهاء عملية تشغيل

إنهاء عملية تشغيل بنظام NovaSeq 6000 ***أمر لا يُمكن التراجع عنه***. لا يمكن للبرنامج استئناف عملية التشغيل أو حفظ بيانات التسلسل، ولا يمكن إعادة استخدام المستهلكات.

1 حدد **End (إنهاء)**، ثم حدد **Yes (نعم)** لتأكيد الأمر.
إذا تم إنهاء عملية التشغيل بعد القراءة رقم 1، يبدأ البرنامج في إجراء غسيل تلقائي بعد عملية التشغيل.

2 حدد من خيارات الغسيل التالية إذا طلب منك ذلك:
- **End Run Without Wash (إنهاء عملية التشغيل دون الغسيل)**—قم بإنهاء عملية التشغيل والبدء في غسيل الصيانة.
- **End Run and Wash (إنهاء عملية التشغيل والغسيل)**—قم بإنهاء عملية التشغيل وإجراء غسيل تلقائي بعد عملية التشغيل.
- **Cancel (إلغاء)**—الاستمرار بعملية التشغيل الحالية.

إذا تم إنهاء عملية التشغيل بين إكمال العنقدة وإكمال القراءة رقم 1، فسيعرض البرنامج خيارات الغسيل. بخلاف ذلك، يبدأ البرنامج في إجراء غسيل تلقائي بعد التشغيل.

3 في حالة تحديدك End Run Without Wash (إنهاء عملية التشغيل دون الغسيل)، اتبع توجيهات البرنامج لإعداد غسيل الصيانة.

إيقاف تشغيل الجهاز

إيقاف تشغيل الجهاز بأمان يؤدي إلى إيقاف تشغيل جميع البرامج والأنظمة، وفصل الطاقة عن الجهاز. يخفت شريط الحالة تدريجيًا من اللون الأخضر إلى اللون الأبيض، مما يشير إلى عملية إيقاف التشغيل قيد التنفيذ.

في الحالات العادية، لا يكون إيقاف تشغيل الجهاز أمرًا ضروريًا.

في حال بدء عملية إيقاف التشغيل أو إعادة التشغيل أثناء تشغيل برنامج تحكم NovaSeq (NVCS)، يجب على المستخدم تأكيد هذا الإجراء قبل إمكانية المتابعة في إيقاف التشغيل أو إعادة التشغيل.

1 من Main Menu (القائمة الرئيسية)، حدد **Shutdown Instrument (إيقاف تشغيل الجهاز)**.

2 بعد أن تصبح الشاشة خالية، قم بإدارة مفتاح الفصل الكهربائي الموجود في الجزء الخلفي من الجهاز إلى وضع إيقاف التشغيل.

3 انتظر لمدة 60 ثانية على الأقل قبل تشغيل الجهاز مرة أخرى.

تنبيه

لا تقم بنقل الجهاز. يمكن أن يؤثر النقل بصورة خاطئة على المحاذاة البصرية ويهدد تكامل البيانات. للحصول على مساعدة بشأن النقل، اتصل بمندوب شركة Illumina لديك.

المستند رقم 1000000019358 إصدار 11 ARA المادة رقم 20023471
للاستخدام البحثي فقط. لا يستخدم في الإجراءات التشخيصية.

الملحق B التحليل في الوقت الفعلي

نظرة عامة على التحليل في الوقت الفعلي **63**
سير عمل التحليل في الوقت الفعلي **64**

نظرة عامة على التحليل في الوقت الفعلي

يشغل نظام تسلسل NovaSeq 6000 التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3)، وهو تطبيق لبرنامج التحليل في الوقت الفعلي، وذلك بمحرك حساب الجهاز. يستخرج التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) الكثافات من الصور الواردة من الكاميرا، ويجري استدعاءً أساسيًا، ويعين درجة جودة للاستدعاءات الأساسية، ويُجري محاذاة إلى PhiX، ويبلغ عن البيانات في ملفات InterOp المعروضة في عارض تحليل التسلسل.

لتحسين وقت المعالجة، يخزن التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) المعلومات في ذاكرة. إذا تم إنهاء تشغيل التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3)، فلا يتم استئناف المعالجة ويتم فقدان أي بيانات تشغيل تتم معالجتها في الذاكرة.

إدخالات التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3)

يتطلب التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) صور الشريحة المتضمنة في ذاكرة النظام المحلية لإجراء المعالجة. يتلقى التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) معلومات عملية التشغيل والأوامر من برنامج NVCS.

مخرجات التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3)

يتم نقل صور لكل قناة ملونة في الذاكرة إلى التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) على هيئة شرائح. من هذه الصور، يُخرج التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) مجموعة من ملفات الاستدعاء الأساسي وملفات الفلترة المسجلة بدرجات الجودة. تدعم جميع المخرجات الأخرى ملفات الإخراج.

نوع الملف	الوصف
ملفات الاستدعاء الأساسي	تندرج كل شريحة يتم تحليلها في ملف استدعاء أساسي متسلسل (*.cbcl). ويتم تجميع الشرائح من الممر والسطح نفسهما في ملف استدعاء أساسي متسلسل *.cbcl واحد لكل ممر وسطح.
ملفات الفلتر	تُنتج كل شريحة ملف فلتر (*.filter) الذي يحدد ما إذا كان العنقود يعبر الفلاتر.
ملفات موقع العنقود	تحتوي ملفات موقع العنقود (*.locs) على إحداثيات X،Y لكل عنقود في الشريحة. يتم إنشاء ملف موقع العنقود لكل عملية تشغيل.

يتم استخدام ملفات الإخراج من أجل تحليل انتقال البيانات في مركز تسلسل BaseSpace. بدلًا من ذلك، استخدم برنامج تحويل bcl2fastq لتحويل FASTQ وحلول التحليل الأخرى. تحتاج ملفات NovaSeq برنامج تحويل bcl2fastq2 إصدار 2.19 أو الأحدث. للحصول على أحدث إصدار لبرنامج bcl2fastq2، قم بزيارة صفحة التنزيلات الخاصة ببرنامج bcl2fastq على موقع شركة Illumina.

يقيّم التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) مقاييس الوقت الفعلي لجودة عملية التشغيل المُخزّنة كملفات InterOp، والتي تعد مخرجًا ثنائيًا يحتوي على شريحة، ودورة، ومقاييس مستوى القراءة. كما يتطلّب عرض المقاييس في الوقت الفعلي باستخدام عارض تحليل التسلسل ملفات InterOp. للحصول على أحدث إصدار لعارض تحليل التسلسل، قم بزيارة صفحة التنزيلات الخاصة بعارض تحليل التسلسل على موقع شركة Illumina.

معالجة الأخطاء

يقوم برنامج التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) بإنشاء ملفات السجل وكتابتها في مجلد السجلات. يتم تسجيل الأخطاء في ملف نصي بتنسيق ملف *.log.

يتم نقل ملفات السجلات التالية إلى وجهة الإخراج النهائي في نهاية المعالجة:

- info_00000.log* يلخص أحداث عملية التشغيل المهمة.
- error_00000.log يسرد الأخطاء التي حدثت أثناء عملية التشغيل.
- warning_00000.log يسرد التحذيرات التي حدثت أثناء عملية التشغيل.

شرائح خلية التدفق

تُمثل الشرائح مناطق تصوير صغيرة في خلية التدفق. تلتقط الكاميرا صورة واحدة لكل قطاع، والذي يقوم البرنامج بتقسيمه إلى شرائح لمعالجة التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3). يعتمد العدد الإجمالي للشرائح على عدد الممرات، والقطاعات، والأسطح التي يتم تصويرها في خلية التدفق.

- تحتوي خلايا التدفق SP على إجمالي 312 شريحة.

- تحتوي خلايا التدفق S1 على إجمالي 624 شريحة.
- تحتوي خلايا التدفق S2 على إجمالي 1408 شريحة.
- تحتوي خلايا التدفق S4 على إجمالي 3744 شريحة.

الجدول 21 شرائح خلية التدفق

مكوّن خلية التدفق	SP	S1	S2	S4	الوصف
الممرات	2	2	2	4	يُعد الممر قناةً مادية بها منافذ إدخال وإخراج.
الأسطح	1	2	2	2	يتم تصوير خلايا التدفق S1، وS2 وS4 على سطحين: علوي وسفلي. يتم تصوير السطح العلوي للشريحة أولاً. ويتم تصوير خلية التدفق SP على السطح السفلي فقط.
قطاعات لكل ممر	2	2	4	6	يُمثّل القطاع عمودًا في ممر خلية التدفق الذي تلتقطه الكاميرا كصورةٍ واحدة.
شرائح لكل قطاع	78	78	88	78	تُمثّل الشريحة جزءًا من القطاع وتصف المنطقة المُصورة في خلية التدفق.
مجموع الشرائح التي تم إنشاؤها	312	624	1408	3744	يساوي حاصل ضرب الممرات × الأسطح × القطاعات × الشرائح لكل قطاع العدد الإجمالي للشرائح.

تسمية الشريحة

يتكون اسم الشريحة من 5 أرقام تمثل موقع الشريحة في خلية التدفق. على سبيل المثال، يشير اسم الشريحة 1205_1 إلى الممر رقم 1، والسطح العلوي، والقطاع رقم 2، والشريحة رقم 5.

- يكون أول رقم هو رقم الممر:
  - 1 أو 2 لخلية التدفق SP، أو S1، أو S2.
  - 1 أو 2 أو 3 أو 4 لخلية التدفق S4.
- يمثل الرقم الثاني السطح: 1 للأعلى أو 2 للأسفل.

  بالنسبة لخلية التدفق SP، يكون الرقم الثاني هو 2 دائمًا وذلك لأن خلية التدفق هذه لها سطح سفلي فقط.
- يمثل الرقم الثالث رقم القطاع:
  - 1 أو 2 لخلية التدفق SP أو S1.
  - 1 أو 2 أو 3 أو 4 لخلية التدفق S2.
  - 1 أو 2 أو 3 أو 4 أو 5 أو 6 لخلية التدفق S4.
- يمثل الرقمان الأخيران رقم الشريحة. يبدأ الترقيم بـ 01 في نهاية الإخراج الخاص بخلية التدفق إلى 88 أو 78 في نهاية الإدخال.
  - 01 إلى 78 لخلية التدفق SP، أو S1، أو S4.
  - 01 إلى 88 لخلية التدفق S2.

سير عمل التحليل في الوقت الفعلي

التسجيل	يسجل الموقع الخاص بكل عنقود في خلية التدفق النموذجية.
استخراج الكثافة	يحدد قيمة الكثافة لكل عنقود.
تصحيح المطاورة	يصحح آثار المطاورة وما قبل المطاورة.
الاستدعاء الأساسي	يحدد الاستدعاء الأساسي لكل عنقود.
سجل الجودة	يعين درجة الجودة لكل استدعاء أساسي.

التسجيل

يقوم التسجيل بمحاذاة إحدى الصور بالمصفوفة السداسية الخاصة بمَجمعات النانو في خلية التدفق النموذجية. ونظرًا للترتيب المُنظّم لمَجمعات النانو، يتم تحديد إحداثيات X و Y مسبقًا لكل عنقود في شريحة. تتم كتابة مواقع العنقود لملف موقع العنقود (s.locs) وذلك لكل عملية تشغيل.

في حالة فشل التسجيل لأي صور موجودة في إحدى الدورات، لا يتم إنشاء استدعاءات أساسية لهذه الشريحة في تلك الدورة. استخدم عارض تحليل التسلسل للتعرف على الصور التي حدث فشل في إنشائها.

استخراج الكثافة

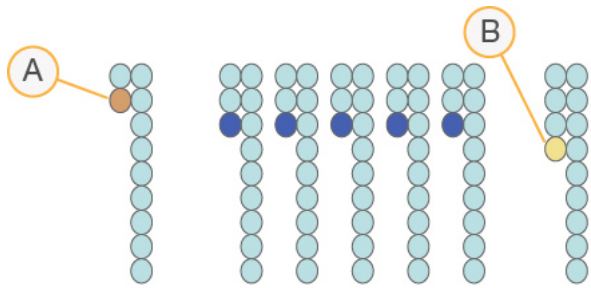
بعد إتمام التسجيل، يقوم استخراج الكثافة بحساب قيمة الكثافة لكل مجمع نانو في الصورة المحددة. في حالة فشل التسجيل، لا يمكن استخراج الكثافة الخاصة بتلك الشريحة.

تصحيح المطاورة

في أثناء تفاعل التسلسل، يمتد كل شريط حمض نووي في عنقود بأساسٍ واحدٍ في الدورة. تحدث المطاورة وما قبل المطاورة عندما يخرج شريط من الطور خلال دورة الدمج الحالية.

- تحدث المطاورة عند تخلف إحدى القواعد.
- تحدث عملية ما قبل المطاورة عندما تتقدم إحدى القواعد.

الشكل 31 المطاورة وما قبل المطاورة



A قراءة مع إحدى القواعد التي تمرّ بمرحلة المطاورة
B قراءة مع إحدى القواعد التي تمرّ بمرحلة ما قبل المطاورة.

يصحح التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) تأثيرات المطاورة وما قبلها، والذي يزيد من الحد الأقصى لجودة البيانات في كل دورة طوال عملية التشغيل.

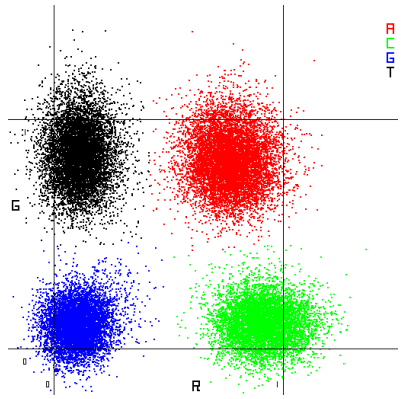
الاستدعاء الأساسي

يحدد الاستدعاء الأساسي إحدى القواعد (A أو C أو G أو T) لكل عنقود خاص بشريحة معينة في دائرة محددة. يستخدم نظام تسلسل NovaSeq 6000 تسلسلًا ثنائي القناة، والذي يتطلب صورتين فقط لتشفير البيانات لأربع من قواعد الحمض النووي (DNA)، وتكون إحدى الصور من القناة الحمراء، والأخرى من القناة الخضراء.

يتم التعرف على حالة عدم وجود استدعاء برمز N. يحدث عدم وجود استدعاءات عندما لا يمر عنقود من الفلتر، أو عند فشل التسجيل، أو في حالة نقل عنقود خارج الصورة.

يتم استخراج كثافة لكل عنقود من الصور الحمراء والخضراء ومقارنتها بعضها مع بعض، مما ينتج عنه أربعة جماهر مميزة. تتوافق كل جمهرة مع قاعدة. تحدد عملية الاستدعاء الأساسي أي جمهرة ينتمي إليها كل عنقود.

الشكل 32 تصور الكثافات العنقودية



الجدول 22 الاستدعاءات الأساسية في التسلسل ذي القناتين

القاعدة	القناة الحمراء	القناة الخضراء	النتيجة
A	1 (يعمل)	1 (يعمل)	العناقيد التي تُظهر الكثافة في كلٍ من القناة الحمراء والخضراء.
C	1 (يعمل)	0 (لا يعمل)	العناقيد التي تُظهر الكثافة في القناة الحمراء فقط.
G	0 (لا يعمل)	0 (لا يعمل)	العناقيد التي تُظهر عدم وجود كثافة في موقع عنقود معروف.
T	0 (لا يعمل)	1 (يعمل)	العناقيد التي تُظهر الكثافة في القناة الخضراء فقط.

مرور العناقيد من الفلتر

يقوم التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) بفلترة البيانات الأولية أثناء التشغيل لإزالة القراءات التي لا تلبّي الحدّ الأدنى من مستوى جودة البيانات. تتم إزالة العناقيد المتراكبة والعناقيد ذات الجودة المنخفضة.

بالنسبة للتحليل ثنائي القناة، يستخدم التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) نظامًا قائمًا على الجمهرة لتحديد نقاء (قياس نقاء الكثافة) الاستدعاء الأساسي. تمر العناقيد من الفلتر (PF) عندما لا يوجد أكثر من استدعاء أساسي واحد في أول 25 دورة لديه نقاء أقل من الحد الثابت. يتم إجراء محاذاة PhiX في الدورة رقم 26 على مجموعة فرعية من الشرائح للعناقيد التي مرّت من الفلتر. لن يتم الاستدعاء الأساسي للعناقيد التي لا تمر من الفلتر ولن تتم محاذاتها.

درجات الجودة

سجل الجودة (درجات الجودة) هو توقع لاحتمالية وجود استدعاء أساسي غير صحيح. تعني درجة الجودة العالية أن الاستدعاء الأساسي أعلى في الجودة وأقرب إلى الصواب. بعد تحديد درجة الجودة، يتم تسجيل النتائج في ملفات استدعاء أساسية (*.cbcl).

تنقل درجة الجودة احتماليات الأخطاء الطفيفة باختصار. يتم تمثيل درجات الجودة بـ Q(X)، حيث تشير X إلى الدرجة. يبين الجدول التالي العلاقة بين درجة الجودة واحتمالية الخطأ.

درجة الجودة Q(X)	احتمالية الخطأ
Q40	0.0001 (1 في 10000)
Q30	0.001 (1 في 1000)
Q20	0.01 (1 في 100)
Q10	0.1 (1 في 10)

سجل الجودة وإعداد التقارير

يقوم سجل الجودة بحساب مجموعة من مؤشرات التوقع لكل استدعاء أساسي، ثم تُستخدم القيم المتوقعة للبحث عن درجة الجودة في جدول الجودة. يتم إنشاء جداول الجودة لتقديم توقعات ذات جودة دقيقة بشكل مثالي لعمليات التشغيل التي تم إنشاؤها عن طريق تهيئة محددة لجهاز التسلسل الأساسي والإصدار الكيميائي.

المستند رقم 1000000019358 إصدار 11 ARA المادة رقم 20023471
للاستخدام البحثي فقط. لا يستخدم في الإجراءات التشخيصية.

ملاحظة

يستند سجل الجودة على نسخة مُعدّلة من خوارزمية Phred.

يُعيّن التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) درجة من أصل ثلاث درجات جودة لكل استدعاء أساسي، وذلك بناءً على موثوقية الاستدعاء الأساسي. يقلل نموذج تقارير درجة الجودة من مساحة التخزين ومتطلبات عرض النطاق دون التأثير على الدقة أو الأداء.

للحصول على مزيد من المعلومات بشأن سجل الجودة، راجع *درجات جودة جهاز NovaSeq™ 6000 وبرنامج التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3)* *(رقم المنشور 770-2017-010)*.

الملحق C مجلدات وملفات الإخراج

بنية مجلد الإخراج للتسلسل 68
ملفات الإخراج للتسلسل 69

بنية مجلد الإخراج للتسلسل

يُنشئ برنامج تحكم NovaSeq (NVCS) اسم مجلد الإخراج تلقائيًا.

- **Config**—إعدادات التهيئة للتشغيل.
- **Logs**—تصف ملفات السجلات الخطوات التشغيلية، وتحليلات الجهاز، وأحداث التحليل في الوقت الفعلي 3 (RTA3) .
- **Data**
  - **Intensities**
    - **BaseCalls**
      - **L00[X]**—يتم جمع ملفات الاستدعاء الأساسية (*.cbcl) في ملف واحد لكل ممر، وسطح ودورة.
      - s.locs—ملف مواقع العنقود لعملية التشغيل.
- **InterOp**—ملفات ثنائية تُستخدم عن طريق عارض تحليل التسلسل.
- **Recipe**—تشغيل ملف الوصفة المحدد.
- **Thumbnail Images**—الصور المصغرة لكل شريحة عاشرة.
- **LIMS**—ملف إعداد التشغيل (*.json)، إذا كان ذلك ممكنًا.
- RTA3.cfg
- RunInfo.xml
- RunParameters.xml
- RTAComplete.txt
- CopyComplete.txt
- SampleSheet.csv—ورقة العينة أو الملف المرفق الآخر، إذا كان ذلك ممكنًا.
- SequenceComplete.txt

المستند رقم 1000000019358 إصدار 11 ARA المادة رقم 20023471
للاستخدام البحثي فقط. لا يستخدم في الإجراءات التشخيصية.

ملفات الإخراج للتسلسل

نوع الملف	وصف الملف، والموقع والاسم
ملفات الاستدعاء الأساسي	يوجد كل عنقود تم تحليله في ملف استدعاء أساسي، ويتم جمعه في ملف واحد لكل دورة، وممر وسطح. يحتوي الملف المجمع على الاستدعاء الأساسي ودرجة الجودة المشفرة لكل عنقود. يتم استخدام ملفات الاستدعاء الأساسي بواسطة مركز تسلسل BaseSpace أو bcl2fastq. Data\Intensities\BaseCalls\L001\C1.1 **L[lane]_[surface].cbcl**، على سبيل المثال L001_1.cbcl
ملفات موقع العنقود	يحتوي ملف موقع العنقود الثنائي على إحداثيات XY للعناقيد الموجودة في شريحة، وذلك لكل خلية تدفق. يحدد المخطط السداسي الذي يطابق مخطط مَجمع النانو الخاص بخلية التدفق الإحداثيات مسبقًا. Data\Intensities **s_[lane].locs**
ملفات الفلتر	يُحدد ملف الفلتر إذا ما كان العنقود قد عبر الفلاتر. يتم إنشاء ملفات الفلتر في الدورة 26 باستخدام 25 دورة من البيانات. يتم إنشاء ملف فلتر واحد لكل شريحة. Data\Intensities\BaseCalls\L001 **s_[lane]_[tile].filter**
ملفات InterOp	يتم استخدام ملفات التقرير الثنائية من أجل عارض تحليل التسلسل. يتم تحديث ملفات InterOp خلال عملية التشغيل. مجلد InterOp
ملف معلومات عملية التشغيل	يقوم بإدراج اسم عملية التشغيل، وعدد الدورات لكل قراءة، سواء كانت القراءة هي قراءة فهرس، وعدد القطاعات والشرائح في خلية التدفق. يتم إنشاء ملف معلومات عملية التشغيل عند بداية عملية التشغيل. Root folder]، **RunInfo.xml]**
ملفات الصور المصغرة	عند التمكين، يتم تصوير صورة مصغرة لكل شريحة عاشرة في أي قناة ملونة (أحمر وأخضر). [X.1]Thumbnail_Images\L001\C—يتم حفظ الملفات في مجلد فرعي لكل دورة. **s_[lane]_[tile]_[channel].jpg**—تحتوي الصورة المصغرة على رقم الشريحة.

الملحق D أمان Windows

عمليات تهيئة الأمان 70
متطلبات كلمة المرور 70
جدار حماية Windows 70
مجموعة أدوات تجربة التخفيف المُحسنة 70
سياسات تقييد البرنامج 70

عمليات تهيئة الأمان

يحتوي نظام التشغيل Windows الذي يشغل كمبيوتر التحكم بالجهاز على عمليات تهيئة الأمان التي تمنع تشغيل البرامج غير المرغوب فيها. تصف المعلومات الواردة في هذا الملحق عمليات التهيئة وكيفية تعديلها لتلبية احتياجاتك.

في الظروف الطبيعية. لا يكون تغيير عمليات تهيئة الأمان الافتراضية أمرًا ضروريًا. إذا كان ذلك ضروريًا، فتأكد من إدارة مدير خبير لإجراء التغيير بعد تخطيط دقيق.

تنبيه

ولأن عمليات التهيئة هذه تؤثر على أداء النظام ويمكن أن تتسبب في تهديد الأمان، اتصل بالدعم الفني لشركة Illumina عندما لا يكون من الواضح ما إذا كان الإعداد بحاجة إلى تعديل أو أن التأثير غير معروف.

متطلبات كلمة المرور

يحدد الجدول التالي سياسات كلمة المرور المطلوبة لكمبيوتر التحكم. يطلب البرنامج تغيير كلمة المرور عند تسجيل الدخول الأول.

الجدول 23 سياسات كلمة المرور الافتراضية

السياسة	إعداد الأمان
فرض محفوظات كلمة المرور	5 كلمات مرور يتم تذكرها
الحد الأقصى لمدة كلمة المرور	180 يومًا
الحد الأدنى لمدة كلمة المرور	0 أيام
الحد الأدنى لطول كلمة المرور	10 أحرف
كلمة المرور يجب أن تفي بمتطلبات التعقيد	مُعطل
تخزين كلمات المرور باستخدام التشفير المعكوس	مُعطل

جدار حماية Windows

يحمي جدار حماية Windows كمبيوتر التحكم عن طريق فلترة الاتصالات الواردة لإزالة التهديدات المحتملة. يتم تمكين جدار الحماية بشكل افتراضي لحظر جميع الاتصالات الواردة. حافظ على تمكين جدار الحماية واسمح بوجود الاتصالات الصادرة. لمزيدٍ من المعلومات حول الاتصالات الصادرة، راجع *دليل إعداد موقع سلسلة NovaSeq (مستند رقم 1000000019360)*.

مجموعة أدوات تجربة التخفيف المُحسنة

تمنع مجموعة أدوات تجربة التخفيف المُحسنة (EMET) استغلال ثغرات البرنامج وتوفر ميزة شهادات الثقة. تكتشف الميزة الهجمات التي تستخدم الشهادات الضارة وتوقفها.

سياسات تقييد البرنامج

تستخدم سياسات تقييد البرامج (SRP) الخاصة بنظام تشغيل Windows قواعد للسماح بتشغيل برامج محددة فقط. فيما يتعلق بنظام NovaSeq 6000، فإن قواعد سياسات تقييد البرامج (SRP) تعتمد على الشهادات، وأسماء الملفات وامتداداتها والأدّلة.

يتم تشغيل سياسات تقييد البرامج (SRP) افتراضيًا لمنع البرامج غير المرغوب فيها من العمل على كمبيوتر التحكم. يُمكن لأحد ممثلي تكنولوجيا المعلومات أو لأحد مسؤولي النظام إضافة القواعد وحذفها بغرض تخصيص مستوى الأمان. إذا تمت إضافة النظام إلى أحد المجالات، فقد يُعدّل كائن سياسة المجموعة المحلية (GPO) القواعد ويغلق سياسات تقييد البرامج (SRP) تلقائيًا.

تنبيه

يتسبب إيقاف تشغيل سياسة تقييد البرامج في منع الحماية التي توفرها. يؤدي تغيير القواعد إلى تجاوز عمليات الحماية الافتراضية.

قواعد سياسات تقييد البرامج (SRP) المسموح بها

في نظام تسلسل NovaSeq 6000، تعمل سياسات تقييد البرامج (SRP) افتراضيًا للسماح بالقواعد التالية.

الشهادات

DigitalSystems
Illumina, Inc.
NovaSeq

الملفات التنفيذية

Portmon.exe
Procmon.exe
Procmon64.exe
Tcpview.exe

امتدادات الملف

*.bin
*.cbcl
*.cfg
*.config
*.csv
*.dat
*.focus
*.imf1
*.ims
*.jpg
*.json
*.lnk
*.locs
*.log
*.manifest
*.sdf
*.tif
*.txt
*.xml

الأدلة

%HKEY_LOCAL_MACHINE\SOFTWARE\Microsoft\Windows\CurrentVersion\ProgramFilesDir%
%HKEY_LOCAL_MACHINE\SOFTWARE\Microsoft\Windows NT\CurrentVersion\SystemRoot%
C:\CrashDumps*
C:\Illumina*
C:\Illumina Maintenance Logs*
C:\LocalSymbols*
C:\Program Files (x86)\Chromium\Application*
C:\Program Files (x86)\EMET 5.5*
C:\Program Files (x86)\Illumina*
C:\Program Files (x86)\Internet Explorer*
C:\Program Files (x86)\LibreOffice 5*
C:\Program Files\Illumina*
C:\ProgramData\Illumina*

الأدلة
C:\ProgramData\Package Cache*
C:\Users\sbsuser\AppData\Local\Temp\Citrix*
C:\Users\sbsuser\AppData\Local\Temp\CitrixLogs*
C:\Users\sbsuser\Desktop\FSE turn over to customer.bat
D:\Illumina*

إضافة قواعد سياسات تقييد البرامج (SRP) وحذفها

أضف قواعد سياسات تقييد البرامج (SRP) واحذفها لتخصيص أمان النظام. يتطلّب تعديل القواعد إيقاف تشغيل سياسات تقييد البرامج (SRP) مؤقتًا.

تنبيه
يُلغي إيقاف تشغيل سياسات تقييد البرامج (SRP) إعدادات الحماية الافتراضية.

1 قم بتسجيل الدخول إلى نظام التشغيل.

2 إيقاف تشغيل سياسات تقييد البرامج (SRP):

a انتقل إلى الدليل C:\Illumina\Security.
b انقر نقرًا مزدوجًا على Disable.reg.
c حدد **Yes (نعم)** لتأكيد التغييرات.

عند استخدام واجهة الشاشة التي تعمل باللمس، فإن الضغط مع الاستمرار لمدة ثانيتين تقريبًا يعادل النقر بزر الماوس الأيمن.

3 حدد **Start (بدء)**، ثم حدد **Run (تشغيل)**.

4 في حقل Open (فتح)، أدخل **secpol.msc**.

5 في مربع حوار Local Security Policy "سياسات الأمان المحلية"، قم بتوسيع **Software Restriction Policies (سياسات تقييد البرنامج)**، ومن ثمّ حدد **Additional Rules (قواعد إضافية)**.

6 لإضافة قاعدة:

a في قائمة Action (الإجراءات)، حدد **New Path Rule (قاعدة مسار جديدة)**.
b في حقل Path (المسار)، أدخل الشهادة، أو اسم الملف، أو امتداد الملف أو الدليل الذي تريد السماح به.
c في قائمة Security level (مستوى الأمان)، حدد **Unrestricted (غير مقيد)**.
d **[اختياري]** في حقل Description (الوصف)، أدخل سبب إنشاء القاعدة.
e حدد **OK (موافق)** لإضافة القاعدة.

7 لحذف قاعدة:

a حدد القاعدة التي ترغب في حذفها، ثم حدد **Delete (حذف)**.
b حدد **Yes (نعم)** لتأكيد الحذف.

8 أغلق مربع حوار Local Security Policy (سياسات الأمان المحلية).

9 ***أعد*** سياسات تقييد البرامج (SRP) إلى وضعها الأساسي:

a انتقل إلى الدليل C:\Illumina\Security.
b انقر نقرًا مزدوجًا على Enable.reg.

10 إذا تم تعديل قواعد سياسات تقييد البرامج SRP للمرة الأولى، فسجّل الخروج ثم سجّل الدخول مُجددًا حتى يتم تفعيل القواعد.

الفهرس

B

bcl2fastq؛تحويل FASTQ؛ملفات الاستدعاء الأساسي؛ملفات الفلتر؛مواقع العنقود؛عمليات التشغيل
المقاييس؛ملفات InterOp؛عارض تحليل التسلسل 63

C

CE؛محرك الحساب؛التصوير؛PhiX
المحاذاة 63

E

EMET؛شهادات الثقة 70

P

PhiX
زيادة؛زيادة، PhiX 30, 39

R

RunInfo.xml؛ملفات InterOp؛ملفات
التشغيل المحدد؛ملفات السجل؛الأخطاء 59

W

Windows
الأمن؛الأمن؛GPO؛كائن سياسة المجموعة 70

ا

أجهزة الاستشعار؛القفازات، التغيير 56
أحجام الإدخال 30, 38
أرقام الكتالوج؛عمليات تهيئة المجموعة 9
استئناف عمليات التشغيل؛عمليات التشغيل؛الاستئناف؛قراءة رقم 1 61
اسم مجلد الإخراج 68
إعدادات التحليل؛مجلد إعداد التشغيل؛مجلد الإخراج 18
الإعدادات الافتراضية لقواعد سياسات تقييد البرامج Windows؛(SRP)
الأمن؛الأمن؛القائمة البيضاء، SRP 71
الأمان
التخصيص؛حساب المسؤول؛الامتيازات؛حساب المسؤول 72
الأوضاع؛القراءات،عدد؛الملصقات، مكونات المجموعة؛خراطيش الكاشف
التسمية؛خلايا التدفق
التسمية؛المواصفات؛خلايا التدفق
المواصفات 9
الأيقونات؛المستهلكات
التغليف؛تواريخ انتهاء الصلاحية؛جهة التصنيع؛أرقام قطع الغيار؛رمز الدفعة؛أرقام المجموعات؛المواد الكيميائية الخطرة؛ظروف التخزين 15
التخلص من مادة الفورماميد؛تكديس الخراطيش؛الخراطيش
تكديس 13
التسلسل ثنائي القناة؛التصوير؛الشرائح؛القطاعات؛المسح الضوئي 2
التسلسل ثنائي القناة؛القناة الحمراء؛القناة الخضراء؛النيوكليوتيدات؛لا توجد استدعاءات 65
التضخيم؛محلول ExAmp Master Mix؛تركيز التحميل؛حجم التحميل 2
الصور؛الشرائح 63
الصيانة الوقائية؛ الصيانة، وقائية 54
الفائض؛التسربات؛ صينية التقطير؛ المشكلات المتعلقة بالسوائليات 60
الكاميرات؛القطاعات؛الممرات؛التصوير 63
الكمية؛الضبط المعياري 29, 37
المبرّد؛ مبرّد الكاشف؛ الكواشف المستخدمة 6
المرور من الفلتر (PF)؛نسبة المرور من الفلتر %PF؛فلتر التنقية؛جودة البيانات؛فلترة العناقيد 66
المساعدة الفنية؛ التعليمات، الجزء الفني؛دعم العملاء؛الوثائق 76
المساعدة؛صفحات الدعم؛نشرات الدعم؛الموقع، الدعم المستهلكات 59
الماء عالي الجودة وفقًا لمعايير المختبرات؛ إرشادات استخدام الماء عالي الجودة وفقًا لمعايير المختبرات 24
المشرع المخصص؛أنابيب المكتبة؛تتبع العينة 13
المطاورة وما قبل المطاورة؛ 65
أنابيب المكتبة
تخزين في الخرطوشة 61
تخزين؛تخفيف المكتبات؛المكتبات
تخفيف؛المكتبات
تخزين؛تخزين المكتبات 31
أنابيب المكتبة؛خراطيش الكاشف
التخزين؛حفظ خراطيش الكاشف 60
أوراق العينة؛مركز تسلسل BaseSpace
متصل وغير متصل؛عمليات التشغيل
مراقبة؛تخزين البيانات 48
إوضاع التشغيل؛نظام إدارة المعلومات المختبرية LIMS؛إعدادات التشغيل؛ 18
إيقاف التشغيل؛إعادة البدء بعد إيقاف التشغيل؛نقل الجهاز؛تحريك الأجهزة؛شريط الحالة؛شريط الضوء 61
إيقاف مؤقت لعمليات التشغيل؛عمليات التشغيل
إيقاف مؤقت؛عمليات التشغيل
التدرج 52

أيقونات الوميض؛الأيقونات، الوميض؛التحذيرات؛الأخطاء 7

ت

تحديد الهوية باستخدام موجات الراديو (RFID)؛فحوصات آلية؛أجهزة الاستشعار؛فحوصات ما قبل التشغيل؛فشل المحاذاة؛مساحة القرص؛أجهزة الاستشعار؛الاتصال بالنظام 59
تحديد الهوية بموجات الراديو (RFID)؛تخزين مجموعات الكاشف؛خراطيش الكاشف
التخزين؛خلايا التدفق
التخزين؛أنابيب المكتبة
التخزين 10
تخفيف المكتبات؛المكتبات
تخفيف؛المكتبات
تخزين؛تخزين المكتبات 40
ترقيم الشريحة؛القطاعات؛ترقيم السطح 64

ج

جُدر الحماية؛الاتصالات الواردة؛الاتصالات الصادرة؛إعداد موقع 70

ح

حاسبة التجميع؛حاسبة، التجميع؛المساعدة
مكتبات التجميع؛مكتبات التجميع 29, 38
حجرة التخزين المؤقت؛ خرطوشة التخزين المؤقت 47
حجرة السوائل؛خراطيش الكاشف
وضع علامة؛محلول غسيل 12
حفظ أنابيب المكتبة؛المكتبات
التخزين؛أنابيب المكتبة
التخزين 61
حوض
مكونات 14
حوض NovaSeq Xp؛حوض؛خلايا التدفق
التخزين؛خلايا التدفق؛التنظيف؛مشعبات NovaSeq Xp،خلايا التدفق
الخدوش؛الخدوش؛ خلايا التدفق؛ موانع التسرب 41

خ

خدمة المراقبة الاستباقية لدى Illumina 18-19
خدمة النسخ العالمية؛إدارة المعالجة؛ملفات استدعاء أساسي متسلسلة CBCL 51
خراطيش الغسيل؛ خرطوشة التخزين المؤقت؛ الموقع رقم 30 56
خراطيش الكاشف
إعداد؛حمامات المياه؛رفوف سلكية؛رفوف الذوبان 26, 34
إفراغ؛إفراغ خراطيش الكاشف؛الكواشف المستخدمة 47
خطوات التسلسل 2

د

درجات الجودة؛جداول الجودة؛الأخطاء الاحتمالية؛خوارزمية Phred؛المستندات التقنية 66
درجات الجودة؛ملفات الاستدعاء الأساسية المتسلسلة CBCL؛الأخطاء الاحتمالية 66

س

سياسات كلمة المرور؛كمبيوتر التحكم 70
سير العمل؛سير العمل القياسي؛سير عمل NovaSeq Xp 21

ش

شرائح؛قطاعات؛ممرات؛التصوير؛خلايا تدفق نموذجية؛خلايا تدفق ذات ممرين؛خلايا تدفق ذات أربعة ممرات؛موانع التسرب 11
شريط الضوء؛شريط الحالة؛البصريات؛الحجرات؛منافذ USB 4

ص

صور مصغرة؛RunInfo.xml؛ملفات استدعاء أساسي؛ملفات الفلتر؛ مواقع العنقود؛ملفات InterOp 69

ع

عارض تحليل التسلسل؛فشل التسجيل؛لا توجد استدعاءات؛إنشاء قالب 64
عمليات الغسيل
المدة؛عمليات الغسيل
التردد؛المستهلكات
عمليات غسيل الصيانة؛خلية تدفق الغسيل؛خراطيش الغسيل؛عمليات غسيل الصيانة
المستهلكات؛الفترات الزمنية
غسيل الصيانة 54
عمليات تشغيل ذات قراءة مفردة؛قراءات المؤشر؛عدد الدورات؛المشرع المخصص؛أوراق العينة 49
عمليات غسيل الصيانة
محاليل الغسيل؛خراطيش الغسيل؛هيبوكلوريت الصوديوم؛Tween 20؛NaOCl؛نظام السوائليات 54
عناصر المجموعة 24

ف

فائض؛كواشف مستخدمة؛حوامل الغطاء؛القفازات؛ التغيير 27, 35

ق

قيم الكثافة؛كثافات العنقود؛مجمعات النانو 65

ك

كاميرات؛خلايا تدفق نموذجية؛التطبيقات؛نظام إدارة المعلومات المختبرية LIMS؛التحليل في الوقت الفعلي؛مركز تسلسل BaseSpace 1
كواشف DPX، التخزين؛تخزين مجموعات الكاشف؛كواشف ExAmp
التخزين؛مشعبات NovaSeq Xp
التخزين 14
كواشف ExAmp 42
إذابة 37
كواشف ExAmp؛ خرطوشة العنقود 10
كواشف تعديل الخواص (التمسخ)؛مخففات؛هيدروكسيد الصوديوم؛ تخفيف؛تخفيف هيدروكسيد الصوديوم 31, 39

م

مجلد إعداد التشغيل؛ نظام إدارة المعلومات المختبرية LIMS الخاص بالطرف الآخر؛معلمات التشغيل، نظام إدارة المعلومات المختبرية LIMS؛إعادة التهجين 19
مجمعات الإدخال؛ممرات قابلة للعنونة بشكل فردي؛مجمعات مشعب NovaSeq Xp، الترقيم؛الترقيم؛ مجمعات؛ترقيم الممر 14
مجموعة البرامج؛برنامج التحكم؛تحليل في الوقت الفعلي؛ملفات InterOp؛خدمة النسخ العالمية 7
محرك القرص الثابت؛إعدادات افتراضية؛بيانات أداء الجهاز؛بيانات الحماية؛مجلد الإخراج 18
محرك القرص الثابت؛بيانات أداء الجهاز؛بيانات السلامة؛مجلد الإخراج؛مجلد إعداد التشغيل؛إعداد نظام إدارة المعلومات المختبرية LIMS 19
محلول ExAmp Master Mix؛موانع التسرب، الفائض؛فقاعات الهواء؛ترقيم الممر؛ترقيم المجمع 43
مدة العنقدة؛دورات التسلسل؛أرقام الدورة؛الفترات الزمنية إنشاء العناقيد 51
مدة عملية التشغيل؛عمليات التشغيل
مقاييس؛ألوان المخطط؛مرور العناقيد من الفلتر؛درجات الجودة؛شاشة التسلسل؛الناتج؛المُدد الزمنية
تشغيل التسلسل 51
مركز تسلسل BaseSpace؛التحليل؛bcl2fastq؛تنسيق ورقة العينة؛تحويل FASTQ 22
مرور العناقيد من الفلتر؛تركيز التحميل؛نسبة المرور من الفلتر PF%؛القياس الكمي؛مراقبة الجودة؛المكتبات
القياس الكمي؛المكتبات
مراقبة الجودة 26, 34
مساحة القرص؛CE؛محرك الحساب؛محرك القرص الثابت؛نقل البيانات؛عمليات التشغيل
الحذف؛خدمة النسخ العالمية؛أيقونات 7
مستهلكات التسلسل؛عمليات غسيل الصيانة
المستهلكات؛الموردون؛المستهلكات
التخفيف وتعديل الخواص؛PhiX
رقم الكتالوج؛أرقام الكتالوج
المستهلكات التي يوفرها المستخدم 23
ملفات CBCL؛طرق التحاليل؛مركز تسلسل BaseSpace الدعم 2
ملفات السجل؛سجلات الخطأ 63
ممرات تعنون بشكل فردي؛كواشف ExAmp
طرق الخلط؛قياسي، محدد؛ NovaSeq Xp، محدد 3
منصة خلية التدفق؛حامل خلية التدفق؛مُحدد المنظر الخاص بالمحاذاة البصرية؛خلايا التدفق
التنظيف؛موانع التسرب؛حوض؛حوض NovaSeq Xp؛خلايا التدفق
الخدوش؛الخدوش، خلايا التدفق 45
منصة خلية التدفق؛مشابك، خلية التدفق؛أجهزة الاستشعار؛محدد المنظر الخاص بالمحاذاة البصرية؛عمليات التشخيص؛الكاميرات 5
مواصفات حجرة التجميد؛ مواصفات الثلاجة؛ الماصات 25
مواقع أكواب الشفط؛ أنشطة ما بعد التشغيل؛ عمليات الغسيل المدة؛المستهلكات
التفريغ؛انتقال التلوث؛ هيبوكلوريت الصوديوم؛NaOCl؛الفترات الزمنية
غسيل تلقائي بعد التشغيل 53
مواقع كوب الشفط؛المستهلكات
التفريغ 57
مؤسسة BaseSpace؛المجال، مركز تسلسل BaseSpace؛مواقع الاستضافة؛أوراق العينة؛إعدادات افتراضية؛عمليات التشغيل
المراقبة 22
موقع رقم 30؛التخلص من مادة الفورماميد؛المستهلكات
التفريغ 53

ن

نظام التشغيل؛التهيئة؛الطاقة؛التشغيل 17
نظام التشغيل؛كمبيوتر التحكم؛إعدادات الأمان؛الإعدادات، الأمان 70
نظام السوائليات؛التخلص من الكاشف المستخدم؛أوراق بيانات السلامة؛مواد كيميائية خطرة؛انتقال التلوث 6
نقل البيانات؛محرك الحساب؛محرك القرص الثابت؛عمليات تشغيل التسلسل
حذف 52

و

وثائق؛المساعدة
وثائق؛التدريب عبر الإنترنت؛إعداد موقع؛مشرع مخصص 2

المساعدة الفنية

للمساعدة الفنية، اتصل بالدعم الفني لشركة Illumina.

الموقع الإلكتروني: www.illumina.com
البريد الإلكتروني: techsupport@illumina.com

هواتف دعم عملاء شركة Illumina

المنطقة	الرقم المجاني	إقليمي
أمريكا الشمالية	1.800.809.4566+	
إسبانيا	911899417 34+	800300143 34+
أستراليا	1.800.775.688+	
الدنمارك	80820183 45+	89871156 45+
السويد	850619671 46+	200883979 46+
الصين	400.066.5835	
ألمانيا	8001014940 49+	8938035677 49+
المملكة المتحدة	8000126019 44+	2073057197 44+
النرويج	16836 800 47+	21939693 47+
النمسا	800006249 43+	19286540 43+
اليابان	0.800.111.5011	
أيرلندا	1800936608 353+	353 016950506+
إيطاليا	800985513 39+	236003759 39+
بلجيكا	80077160 32+	34002973 32+
تايوان	00806651752	
سنغافورة	1.800.579.2745+	
سويسرا	565800000 41+	800200442 41+
فرنسا	805102193 33+	170770446 33+
فنلندا	800918363 358+	974790110 358+
نيوزيلندا	0.800.451.650	
هولندا	8000222493 31+	207132960 31+
هونج كونج	800960230	
دول أخرى	+44.1799.534000	

ورق بيانات السلامة (SDS)—متوفر على موقع شركة Illumina support.illumina.com/sds.html.

وثائق المنتج—متوفرة للتنزيل بصيغة PDF من موقع شركة Illumina. انتقل إلى موقع support.illumina.com، واختر منتجًا، ثم اختر **Documentation & Literature (الوثائق والمواد المطبوعة)**.

المستند رقم 1000000019358 إصدار 11 ARA المادة رقم 20023471
للاستخدام البحثي فقط. لا يستخدم في الإجراءات التشخيصية.

المستند رقم 1000000019358 إصدار ARA 11
المادة رقم 20023471

Illumina
Illumina Way 5200
.San Diego, California 92122 U.S.A
(ILMN (4566.1.800.809+
(خارج أمريكا الشمالية) 1.858.202.4566+
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

للاستخدام البحثي فقط. لا يستخدم في الإجراءات التشخيصية.
حقوق الطبع والنشر © لشركة Illumina, Inc 2019، جميع الحقوق محفوظة.

illumina®