Element Biosciences

Sequenzierung mit Cloudbreak Freestyle Dx™

Benutzerhandbuch

ZUR VERWENDUNG MIT

AVITI Dx™ System
AVITI Dx Operating Software v4.0
Cloudbreak Freestyle Dx™ Sequenzierungskits

ELEMENT BIOSCIENCES
Die Produktfamilie AVITI Dx System liefert präzise, hochwertige Rohdaten der DNA-Sequenzierung aus einer Vielzahl biologischer Proben. Das Produkt ist ausschließlich als Tool zur Datengenerierung vorgesehen und liefert keine diagnostischen Interpretationen oder direkten klinischen Empfehlungen.

Dokument-Nr. MA-00087 Rev. B
Oktober 2026

Die Angaben in diesem Dokument können ohne vorherige Ankündigung geändert werden. Für Ihre Nutzung von Produkten von Element Biosciences, Inc. und deren verbundenen Unternehmen (zusammen „Element“) können bestimmte Bedingungen und/oder Nutzungsbeschränkungen gelten. Bitte beachten Sie die jeweils geltenden Bedingungen.

ELEMENT SCHLIESST IN BEZUG AUF DIESES DOKUMENT JEGLICHE AUSDRÜCKLICHEN, GESETZLICHEN, STILLSCHWEIGENDEN ODER SONSTIGEN GEWÄHRLEISTUNGEN AUS, EINSCHLIESSLICH, ABER NICHT BESCHRÄNKT AUF GEWÄHRLEISTUNGEN DER MARKTGÄNGIGKEIT, DER ZUFRIEDENSTELLENDEN QUALITÄT, DER NICHTVERLETZUNG VON RECHTEN DRITTER ODER DER EIGNUNG FÜR EINEN BESTIMMTEN ZWECK. ELEMENT HAFTET IN KEINEM FALL, OB VERTRAGLICH, AUS UNERLAUBTER HANDLUNG, AUS GEWÄHRLEISTUNG, NACH GESETZ ODER AUF ANDERER GRUNDLAGE, FÜR BESONDERE, FOLGE-, BEILÄUFIG ENTSTANDENE, STRAF- ODER INDIREKTE SCHÄDEN IM ZUSAMMENHANG MIT DIESEM DOKUMENT, UNABHÄNGIG DAVON, OB DIESE VORHERSEHBAR WAREN ODER OB ELEMENT BIOSCIENCES AUF DIE MÖGLICHKEIT SOLCHER SCHÄDEN HINGEWIESEN WURDE.

© 2026 Element Biosciences, Inc. Alle Rechte vorbehalten. ABC, Adept, Avidite, Avidite Base Chemistry, Aviti, Aviti24, Aviti Dx, Catalyst, CB Freestyle, Cloudbreak, Cloudbreak Freestyle, Cloudbreak Freestyle Dx, CB Freestyle Dx, CytoCanvas, CytoCanvas Studio, Cytos, ElemBio, ElemBio Catalyst, ElemBio Cloud Custom Designer, Element Biosciences, Element OS, Elevate, Panos, Teton, Teton Atlas, Trinity, Trinity Freestyle, UltraQ und Vitari sind Marken und/oder eingetragene Marken von Element Biosciences, Inc. in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern. Alle anderen Marken, Dienstleistungsmarken und Logos sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber. Die Verwendung von Drittanbietermarken dient ausschließlich Identifikationszwecken und impliziert keine Billigung, Förderung oder Zugehörigkeit.

Weitere Informationen finden Sie unter elementbiosciences.com.

Inhaltsverzeichnis

Übersicht	4
Besonderheiten von Libraries	6
Empfehlungen für die Eingabe	7
Cloudbreak Freestyle Dx-Workflow-Zusammenfassung	8
Run-Vorbereitung	9
Run-Setup	13
Fehlerbehebung	22
Cloudbreak Freestyle Dx Verbrauchsmaterialien	25
Dokumentversionsverlauf	28

Übersicht

Der Workflow Cloudbreak Freestyle Dx Sequencing verwendet ein Cloudbreak Freestyle Dx-Kit, um Libraries auf dem AVITI Dx System zu sequenzieren.

- **Cloudbreak Freestyle Dx** – Bietet mehrere Read-Längen und Output-Optionen, um unterschiedliche Anwendungen abzudecken. Cloudbreak Freestyle Dx-Kits ermöglichen das direkte Laden linearer Libraries ohne Library-Konvertierung, einschließlich Libraries von Drittanbietern.

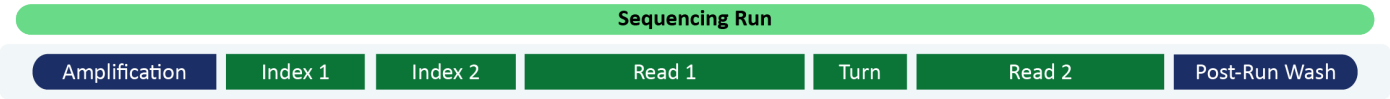
Alle Cloudbreak Freestyle Dx-Kits sind für minimalen Abfall und eine einfache Entsorgung ausgelegt. Die Reagenzienübermenge unterstützt die zusätzlichen Zyklen, die Indexsequenzen und Unique Molecular Identifiers (UMIs) benötigen, um Proben mit hoher Sicherheit zu identifizieren. Eine Liste der Kit-Konfigurationen und Katalognummern finden Sie unter *Cloudbreak Freestyle Dx-Sequenzierungskits* auf Seite 25.

Cloudbreak Freestyle Dx-Kits sind mit einer Vielzahl von Library-Vorbereitungs-Workflows kompatibel. Weitere Informationen zur Kompatibilität finden Sie auf der Seite *Produktkompatibilität* auf der Website von Element. Cloudbreak Freestyle Dx-Kits können nur verwendet werden, wenn das AVITI Dx System im IVD-Modus betrieben wird. Überprüfen Sie vor dem Initiieren eines Sequenzier-Runs, ob sich das Gerät im richtigen Betriebsmodus befindet. Anweisungen zum Wechseln zwischen RUO- und IVD-Modus finden Sie im *Benutzerhandbuch zum AVITI Dx System (MA-00088)*.

Phasen des Sequenzier-Runs

AVITI Dx Operating Software (AVITI Dx OS) generiert ein Rezept auf Grundlage der während des Run-Setups eingegebenen Run-Parameter. Das Rezept steuert jede Phase eines Runs. Ein Run ist abgeschlossen, wenn das Rezept ausgeführt wurde und die Primäranalyse abgeschlossen ist. Ein Sequenzier-Run umfasst die folgenden Phasen:

- **Amplifikation** – Hybridisiert die Library an die Flow Cell und führt die Amplifikation durch, um Polonys zu bilden, die jeweils mehrere Kopien derselben Sequenz aus der Library enthalten.
- **Sequenzierung** – Führt jeden Read im Run einschließlich Bildgebung und Primäranalyse durch.
- **Spülung nach dem Run** – Spült automatisch Puffer aus der Sequenzierungskartusche durch das Fluidsystem, um Salze und restliche Library zu entfernen.



Reads in einem Sequenzier-Run

Bis zu vier Reads bilden einen Sequenzier-Run: Index 1, Index 2, Read 1 und Read 2.

- **Index-Reads** – Ein Run kann einen, zwei oder keine Index-Reads umfassen.
  - » **Index 1** sequenziert die Index-1-Sequenz.
  - » **Index 2** sequenziert die Index-2-Sequenz.
  - » Ein Dual-Index-Run sequenziert Index 1 und Index 2.
- **Read 1 und Read 2** – Alle Runs müssen einen Read 1 enthalten.
  - » **Read 1** sequenziert den Vorwärtsstrang des DNA-Inserts.
  - » **Read 2** sequenziert den Rückwärtsstrang.
  - » Ein Paired-End-Run sequenziert Read 1 und Read 2, einschließlich einer Paired-End-Umkehr vor Read 2, um den komplementären Strang zu erzeugen.

Anzahl der Zyklen

Die Read-Länge ist die Gesamtanzahl der in einem Run durchgeführten Zyklen. Für bioinformatische Zwecke wird empfohlen, jedem Read einen zusätzlichen Zyklus hinzuzufügen. Der zusätzliche Zyklus verbessert die Genauigkeit des Q-Scores für den 150. Zyklus. Die für den Run verwendete Software und Chemie schreiben eine Mindestanzahl von Zyklen vor. Read 1 erfordert mindestens fünf Zyklen und mindestens 25 Zyklen, um alle Run-Metriken zu erzeugen. Die maximale Anzahl der Zyklen hängt vom Kit ab:

- Ein 2 x 75-Kit führt bis zu 184 Zyklen durch und unterstützt einen 2 x 76-Run mit Indexierung und Unique Molecular Identifiers (UMIs).
- Ein 2 x 150-Kit führt bis zu 334 Zyklen durch und unterstützt einen 2 x 151-Run mit Indexierung und UMIs.

Wenn Sie das Gerät im RUO-Modus betreiben, finden Sie Informationen zu unterstützten Read-Längen und erwarteten Run-Zeiten im Benutzerhandbuch zur Cloudbreak-Sequenzierung.

Run-Dauer

Kit-Output-Konfiguration	Read-Länge	Run-Zeit[1]
High Output	2 x 75	≥ 25 Stunden
	2 x 150	≥ 40 Stunden
Low Output	2 x 150	≥ 28 Stunden

[1] Individuell adressierbare Lanes und benutzerdefinierte Rezepte können die Run-Zeiten verlängern.

Read-Anzahlen und Output auf dem AVITI Dx-System

Read-Anzahlen und Output auf dem AVITI Dx System variieren je nach Sequenzierungskit-Konfiguration und Run-Setup.

Kit-Konfiguration	Kit-Größe	Ziel-Read-Anzahlen	Output (Gb)
Cloudbreak Freestyle Dx High Output	2 x 75	≥ 1,2 Milliarden	180
	2 x 150	≥ 1,2 Milliarden	360
Cloudbreak Freestyle Dx Low Output	2 x 150	≥ 300 Millionen	90

Besonderheiten von Libraries

Für einige Libraries gelten besondere Anforderungen bei der Sequenzierung. Stellen Sie sicher, dass Sie die für Ihre Library geltenden Anforderungen einhalten.

Low-Diversity-Amplicon-Libraries

Für Low-Diversity-Libraries mit hoher Plexität, z. B. eine 16S-Amplicon-Library, empfiehlt Element, beim Run-Setup die Einstellung „Low-Diversity mit hoher Plexität“ zu aktivieren. Diese Einstellung erfordert einen Library-Pool, der die folgenden Anforderungen erfüllt:

- Drittanbieter-Libraries
- Hohe Plexität von ≥ 64 Unique-Dual-Indexed-(UDI-)Libraries
- Ein 1–5-%-Spike-in der PhiX Kontroll-Library

VORSICHT
Ein Überschreiten eines 5-%-Spike-ins kann die Indexdiversität des Pools verringern, was zu einer Qualitätsminderung führt.

Bead-basierte Normalisierung

PCR ist erforderlich, wenn ein Library-Pool sequenziert wird, der das bead-basierte Normalisierungsprotokoll durchlaufen hat. Vor der Verdünnung auf die Ziel-Ladekonzentration verwenden Sie Amplifikations- und Qubit-Kits, um den Library-Pool zu amplifizieren und zu quantifizieren.

- Verwenden Sie für Cloudbreak Freestyle Dx-Chemie mit Drittanbieter-Libraries das KAPA HiFi HotStart Library Amplification Kit mit Primer Mix. Befolgen Sie die Anweisungen des Herstellers.

Short-Insert- oder Long-Insert-Libraries

Für die Sequenzierung von Short-Insert- oder Long-Insert-Libraries müssen Sie beim Run-Setup das vorgeladene benutzerdefinierte Rezept angeben.

Short-Insert-Libraries	• Wenn Sie Cloudbreak Freestyle Dx-Chemie und Libraries mit Inserts von < 100 bp verwenden, ist das Short-Insert-Rezept erforderlich. • Für Libraries mit Inserts von 100–300 bp wird das Short-Insert-Rezept empfohlen. • Das Short-Insert-Rezept ist mit 2 x 75- und 2 x 150-Kits kompatibel.
Long-Insert-Libraries	• Wenn Sie Cloudbreak Freestyle Dx-Chemie und Libraries mit Inserts von > 750 bp verwenden, ist das Long-Insert-Rezept erforderlich. • Das Long-Insert-Rezept ist mit 2 x 75- und 2 x 150-Kits kompatibel.

Empfehlungen für die Eingabe

Die empfohlene Eingabe für die Sequenzierung ist eine Library mit ≥ 1 nM. Die Eingangs-Library wird auf 1 nM normalisiert, in Einzelstränge denaturiert und auf die Ziel-Ladekonzentration verdünnt. Wenn mit einer Library von 0,2–1 nM gestartet wird, wird die Library denaturiert und verdünnt, jedoch nicht normalisiert. Library-Pools mit einer Ausgangskonzentration von < 0,2 nM werden nicht unterstützt.

PhiX Kontroll-Library-Spike-in

Für die meisten Anwendungen empfiehlt Element ein Spike-in der PhiX Kontroll-Library. Die folgenden Empfehlungen für Spike-in-Prozentsätze optimieren den Nutzen der PhiX Kontroll-Library für bestimmte Experimente.

Experiment	Spike-in (%)
QC- und Fehlerratenbericht	> 2
Low-Complexity-Indexierung (≤ 2-plex)	> 2
Libraries, die die Einstellung Low-Diversity mit hoher Plexität verwenden	1–5
Andere Low-Diversity-Libraries	≥ 5

Ladekonzentration

Verwenden Sie die folgenden Empfehlungen als Ausgangspunkt, um Ihre optimale Ladekonzentration zu bestimmen. Die Empfehlungen für die Ladekonzentration hängen von Ihrem Library-Vorbereitungs-Workflow, der Kit-Chemie, dem Output-Level und der Kit-Größe ab.

- Die Polony-Anzahl steigt mit zunehmender Ladekonzentration. Eine geringere Polony-Anzahl fördert eine höhere Datenqualität, verringert jedoch die Datenausbeute. Einige Libraries erfordern eine höhere oder niedrigere Konzentration als die angegebenen Bereiche.
- Die durchschnittliche Library-Größe ist die volle Länge der Library einschließlich DNA-Insert und Adaptern. Gepoolte Libraries müssen ähnliche Größenverteilungen aufweisen.

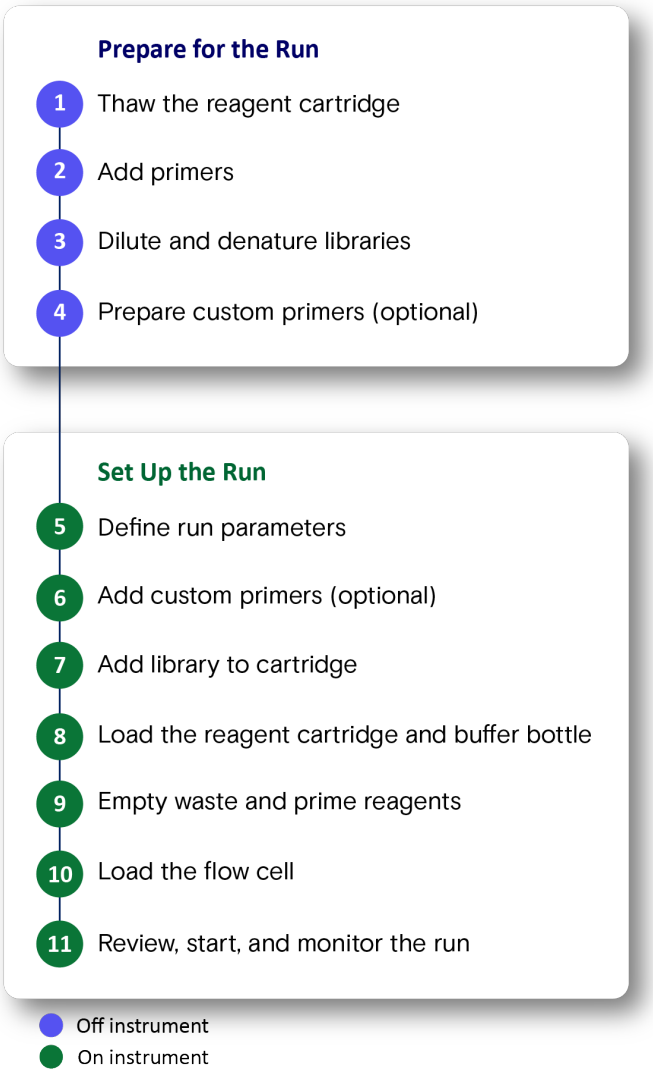
AVITI Dx mit AVITI Dx OS v4.0

Cloudbreak Freestyle Dx-Chemie, 2 x 75 und 2 x 150 Kits

Durchschnittliche Library-Größe	Drittanbieter PCR-Free	Drittanbieter PCR-Plus
Klein (250–450 bp)	7,5–11,25 pM	8,75–12,5 pM
Mittel (450–700 bp)	8,75–12,5 pM	11,25–15 pM
Groß (≥ 700 bp)	8,75–12,5 pM	11,25–15 pM

Cloudbreak Freestyle Dx-Workflow-Zusammenfassung

Das Durchführen eines Cloudbreak Freestyle Dx-Sequenzier-Runs umfasst Schritte zur Vorbereitung von Reagenzien und zur Verdünnung der Library auf das geeignete Volumen und die geeignete Konzentration für die Sequenzierung. Weitere Informationen finden Sie unter *Ladekonzentration* auf Seite 7.



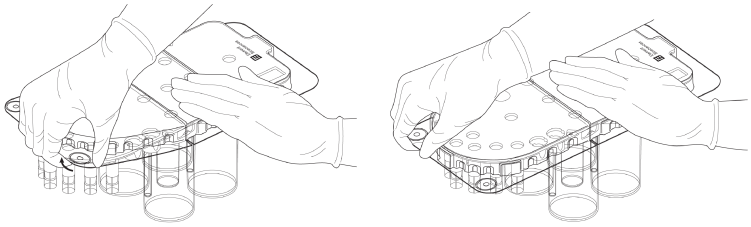
Run-Vorbereitung

Die Run-Vorbereitung umfasst das Auftauen der Sequenzierungskartusche und gegebenenfalls das Hinzufügen geeigneter Primer. Das anschließende Library-Verdünnungsverfahren umfasst die Option, eine normalisierte Library zu lagern. Wenn Sie beabsichtigen, eine Library zu lagern, bereiten Sie die Kartusche erst vor, wenn Sie zur Sequenzierung bereit sind. Bereiten Sie die Kartusche innerhalb eines Tages vor der Sequenzierung vor.

Reagenzien auftauen

1. Falls die Kartusche eine Versandabdeckung umfasst, entfernen Sie die Versandabdeckung:

   a. Stützen Sie die Kartusche ab und heben Sie die Entfernungslasche an der linken Ecke an, bis sie sich von der Kartusche löst.



   b. Heben Sie entlang der Vorderkante der Versandabdeckung wiederholt die Kante an, bis die Abdeckung vollständig gelöst ist.

   c. Ziehen Sie daran, um den verbleibenden Teil der Versandabdeckung von der Kartusche zu entfernen.

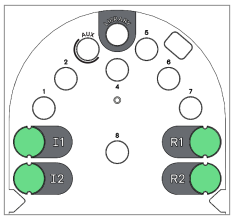
2. Tauen Sie die Sequenzierungskartusche auf. Ein Schutz der Kartusche vor Licht ist erforderlich, bis sie in das Gerät eingesetzt wird.

Kartusche	Wasserbad bei Raumtemperatur	Kühlschrank
2 x 75	1,5 Stunden	8 Stunden
2 x 150	2,5 Stunden	24 Stunden

3. Stellen Sie sicher, dass die Reagenzien *vollständig* aufgetaut sind. Prüfen Sie jedes Well, da die Reagenzien unterschiedlich schnell auftauen.
4. Wenn noch Eis vorhanden ist, setzen Sie das Auftauen fort.
5. Stellen Sie die aufgetaute Kartusche bei Raumtemperatur beiseite und starten Sie den Run innerhalb von 2 Stunden. Wenn Sie den Run nicht sofort starten, lagern Sie die aufgetaute Kartusche bei 2 °C bis 8 °C. Sie können sie über Nacht bei 2 °C bis 8 °C lagern, um sie am nächsten Tag zu verwenden.

Primer-Röhrchen hinzufügen

1. Wenn Sie ein Cloudbreak Freestyle Dx-Sequenzierungskit ohne benutzerdefinierte Primer verwenden, überspringen Sie die folgenden Schritte und fahren Sie mit *Library und benutzerdefinierte Primer verdünnen* auf Seite 10 fort.
2. Nehmen Sie den entsprechenden Primer-Satz aus der Lagerung bei –25 °C bis –15 °C.
3. Um die Primer-Röhrchen in der Kartusche durch den Primer-Satz zu ersetzen, drehen Sie die Primer-Röhrchen in den mit I1, I2, R1 und R2 gekennzeichneten Wells nach links, um sie zu entriegeln.



4. Entfernen Sie die Primer-Röhrchen aus der Kartusche und entsorgen Sie sie gemäß dem SDS.

   Wenn sich die Röhrchen nur schwer entfernen lassen, ziehen Sie die Etiketten ab und drehen Sie die Röhrchen, während Sie sie nach oben drücken.
5. Setzen Sie die Röhrchen aus dem Primer-Satz in die frei gewordenen Wells ein. Gleichen Sie die Abkürzung auf dem Röhrchenetikett mit dem Well-Etikett ab.
6. Drehen Sie jedes Röhrchen nach rechts, bis es einrastet.

Library und benutzerdefinierte Primer verdünnen

Zur Vorbereitung der Sequenzierung wird die Eingangs-Library auf 1 nM normalisiert, mit NaOH denaturiert, neutralisiert und weiter verdünnt. Die Verdünnungsverfahren erzeugen 1,4 ml verdünnte Library bei der Ziel-Ladekonzentration mit optionalem Spike-in. Benutzerdefinierte Primer werden gegebenenfalls verdünnt.

Wenn Sie das Add-On „Individuell adressierbare Lanes“ verwenden, befolgen Sie die entsprechenden Verfahren für beide Libraries. Für beide Libraries werden dieselben Denaturierungs- und Verdünnungsmethoden verwendet, wodurch für jede Library ein Gesamtvolumen von 1,4 ml entsteht.

Stellen Sie die folgenden Verbrauchsmaterialien zusammen:

- 0,2 M Tris-HCl-Puffer, pH 7,0
- 1 N NaOH
- 2 ml DNA LoBind-Röhrchen (4–7)
- 10 mM Tris-HCl, pH 8,0 mit 0,1 mM EDTA (Low-TE-Puffer)
- Nukleasefreies Wasser

Library vorbereiten

Führen Sie bei bead-normalisierten Libraries vor dem Fortfahren eine Amplifikation und Quantifizierung durch. Siehe *Bead-basierte Normalisierung* auf Seite 6.

1. Nehmen Sie die folgenden Komponenten aus der Lagerung bei –25 °C bis –15 °C und tauen Sie sie auf Eis auf:
   - » Library-Ladepuffer
   - » Test-Library
   - » [Optional] PhiX Kontroll-Library
2. Vortexen Sie die aufgetauten Libraries impulsweise und zentrifugieren Sie sie kurz.
3. Wenn die Test-Library ≥ 1 nM ist, normalisieren Sie sie:
   a. Verdünnen Sie die Library in einem neuen DNA-LoBind-Röhrchen mit Low-TE-Puffer auf 1 nM.
   b. Fahren Sie sofort fort oder verschließen Sie das Röhrchen und lagern Sie die 1-nM-Library bei –25 °C bis –15 °C.

Library-Ladekonzentration berechnen

Berechnen Sie die Ladekonzentrationen und Volumina der Test-Library und der PhiX Kontroll-Library für die Sequenzierung unter Verwendung eines Gesamt-Ladevolumens von 1,4 ml. Sie benötigen die Ziel-Ladekonzentration, die relativen Mengen jeder Library und den Spike-in-Prozentsatz der PhiX Kontroll-Library, um die Berechnungen durchzuführen.

HINWEIS
Die Konzentrationen der Test-Library und der Kontroll-Library müssen nicht übereinstimmen.

1. Berechnen Sie die Ladekonzentration jeder Library anhand der Ziel-Ladekonzentration wie folgt:

Library	Berechnung	Resultierende Ladekonzentration (pM)
Experimentell	Ziel-Ladekonzentration in pM * (100 % – Spike-in-%)	_____
Kontrolle	Ziel-Ladekonzentration in pM * Spike-in-%	_____

2. Berechnen Sie das Volumen für jede Library anhand der berechneten Ladekonzentration, der Library-Ausgangskonzentration und eines Ladevolumens von 1,4 ml wie folgt:

Library	Berechnung	Resultierendes Ladevolumen (µl)
Experimentell	(Library-Ladekonzentration in pM * 1400 µl) / Library-Ausgangskonzentration in pM	_____
Kontrolle	(Kontroll-Library-Ladekonzentration in pM * 1400 µl) / Kontroll-Library-Ausgangskonzentration in pM	_____

HINWEIS
Wenn das für die Kontroll-Library berechnete Volumen < 1 µl beträgt, verdünnen Sie die Kontroll-Library in Low-TE-Puffer, um für ein genaues Pipettieren ein Volumen ≥ 1 µl zu verwenden.

3. Notieren Sie das Gesamtvolumen der verdünnten Test-Library und der Kontroll-Library in µl.

Beispielberechnung

Eine Beispielberechnung unter Verwendung einer Ziel-Ladekonzentration von 9 pM mit einem 2-%-Spike-in der PhiX Kontroll-Library und einer Test-Library-Ausgangskonzentration von 1 nM (1000 pM) ist in der folgenden Tabelle dargestellt. Die PhiX Kontroll-Library wurde verdünnt und bei einer Konzentration von 100 pM verwendet, um für ein genaues Pipettieren ein Volumen von ≥ 1 µl zu ermöglichen.

Library	Ladekonzentration (pM)	Ladevolumen (µl)
Experimentell	9 * 98 % = 8,82 pM	(8,82 * 1400)/1000 = 12,3 µl
Kontrolle	9 * 2 % = 0,18 pM	(0,18 * 1400)/100 = 2,5 µl

Library mit NaOH denaturieren

Bei diesem Verfahren werden gleiche Volumina der Library, von 0,2 N NaOH und von 0,2 M Tris-HCl-Puffer (pH 7,0) verwendet. Daher wird das während des Berechnungsschritts erfasste Volumen in zwei nachfolgenden Schritten verwendet.

1. Kombinieren Sie die folgenden Reagenzien, um 0,2 N NaOH herzustellen. Verwenden Sie 0,2 N NaOH innerhalb desselben Tages und entsorgen Sie es anschließend.

Reagenz	Volumen
1 N NaOH	20 µl
Nukleasefreies Wasser	80 µl
Gesamt	**100 µl**

2. Kombinieren Sie in einem neuen DNA LoBind-Röhrchen die im Berechnungsschritt **3** berechneten Volumina der Test-Library und der Kontroll-Library.
3. Geben Sie ein gleiches Volumen frisch hergestellter 0,2 N NaOH hinzu.
4. Vortexen Sie das Röhrchen zum Mischen und zentrifugieren Sie es kurz.
5. Inkubieren Sie das Röhrchen 5 Minuten bei Raumtemperatur, um die Library zu denaturieren.
6. Vortexen Sie das Röhrchen zum Mischen und zentrifugieren Sie es kurz.
7. Geben Sie ein gleiches Volumen 0,2 M Tris-HCl-Puffer (pH 7,0) wie 0,2 N NaOH hinzu, um die Reaktion zu neutralisieren.
8. Vortexen Sie das Röhrchen zum Mischen und zentrifugieren Sie es kurz.

   —Die Library ist denaturiert, neutralisiert und weist bei einem 3-fachen Eingangsvolumen ein Drittel der Eingangskonzentration auf.—
9. Geben Sie ein ausreichendes Volumen von Library-Ladepuffer zum kombinierten Library-Volumen hinzu, um ein Gesamtvolumen von 1,4 ml zu erreichen:

   $$\textit{Puffervolumen in } \mu l = 1400 \text{ µl} - 3 * \textit{Library-Volumen in } \mu l$$
10. Vortexen Sie das Röhrchen zum Mischen und zentrifugieren Sie es kurz.
11. Stellen Sie die verdünnte Sequenzierungs-Library auf Eis. Innerhalb desselben Tages verwenden.

Benutzerdefinierte Primer vorbereiten

1. Wenn Sie keine benutzerdefinierten Primer verwenden, überspringen Sie die folgenden Schritte und fahren Sie mit *Run-Setup* auf Seite 13 fort.
2. Bereiten Sie in einem neuen DNA-LoBind-Röhrchen jeden zutreffenden benutzerdefinierten Primer mit Low-TE-Puffer vor:

Benutzerdefinierter Primer	Volumen	Konzentration
Index 1	19 µl	100 µM
Index 2	19 µl	100 µM
Read 1	32,4 µl	100 µM
Read 2	19 µl	100 µM

3. Stellen Sie die 100-µM-benutzerdefinierten Primer auf Eis. Innerhalb desselben Tages verwenden.

Run-Setup

Das Run-Setup für die Sequenzierung fordert Sie auf, Run-Parameter festzulegen, Sequenzierungsverbrauchsmaterialien einzusetzen und die Abfallflasche zu leeren. Lesen Sie vor dem Initiieren eines Runs die Übersicht sowie die Software-, Fehlerbehebungs- und Sicherheitsinformationen im Benutzerhandbuch für Ihr Gerät.

Sequenzier-Run initiieren

1. Stellen Sie die folgenden Materialien zusammen:
   - » Pufferflasche
   - » Kartusche
   - » Kartuschenkorb
   - » Tuch oder Wischtuch
   - » Verwendete Flow Cell

   —Möglicherweise befindet sich bereits eine gebrauchte Flow Cell im Gerät.—
2. Stellen Sie gegebenenfalls die Run-Manifeste für den Import bereit:
   - » Wenn Sie den Run manuell einrichten, speichern Sie das Manifest auf einem USB-Laufwerk und schließen Sie das USB-Laufwerk an einen USB-Anschluss des Geräts an.
   - » Alternativ können Sie das Manifest in der angegebenen SMB-Speicherverbindung speichern.
3. Wählen Sie auf dem Startbildschirm **Neuer Run** aus.
4. Wenn AVITI Dx OS meldet, dass die Flow Cell fehlt, laden Sie eine ***verwendete*** Flow Cell:
   a. Wählen Sie **Nest öffnen** aus.
   b. Platzieren Sie die gebrauchte Flow Cell auf dem Nest und schließen Sie den Deckel.
   c. Wählen Sie **Nest schließen** aus.
5. Wählen Sie **Sequenzierung** aus.
6. Wählen Sie die Seite für die Sequenzierung aus:
   - » **Seite A** – Richten Sie einen Run auf Seite A ein.
   - » **Beide** – Richten Sie Runs auf den Seiten A und B ein.
   - » **Seite B** – Richten Sie einen Run auf Seite B ein.
7. Fahren Sie mit *Parameter für manuelle Runs festlegen* auf Seite 13 fort.

Parameter für manuelle Runs festlegen

1. Geben Sie im Feld „Run-Name“ einen eindeutigen Namen ein, um den Run zu identifizieren.

   —Das Feld akzeptiert 1–64 alphanumerische Zeichen, Bindestriche und Unterstriche.—
2. Wählen Sie gegebenenfalls **Durchsuchen** aus und importieren Sie das Run-Manifest.
3. [Optional] Geben Sie im Feld „Beschreibung“ eine Beschreibung ein, die den Run repräsentiert.

   —Das Feld akzeptiert ≤ 500 alphanumerische Zeichen, Bindestriche, Unterstriche, Leerzeichen und Punkte.—
4. Wählen Sie im Dropdown-Menü „Speicher“ einen Speicherort aus:
   - » Um Run-Daten am Standard-Speicherort auszugeben, behalten Sie die Standardauswahl bei.
   - » Um den Standard-Speicherort für den aktuellen Run zu überschreiben, wählen Sie eine Speicherverbindung aus.
5. Wählen Sie im Dropdown-Menü „Sequenzierungskit“ das verwendete Kit aus. Informationen zur Kit-Kompatibilität finden Sie auf der Seite *Produktkompatibilität* auf der Website von Element.

—Die aufgeführten Kits hängen von der Kompatibilität mit dem Gerätetyp sowie dem ausgewählten Library-Typ und der ausgewählten Library-Struktur ab.—

6. Wählen Sie eine Option für Low-Diversity mit hoher Plexität aus.
   - » **Ja** – Sequenzieren von Low-Diversity-Libraries mit hoher Plexität. Diese Option erfordert mindestens 4 Zyklen für Index 1.
   - » **Nein** – Sequenzieren von anderen Libraries.
7. Wählen Sie die Anzahl der Library-Pools aus.
8. Geben Sie in den Feldern „Zyklen“ die Anzahl der Zyklen ein, die in jedem Read durchgeführt werden sollen.
   - » Überschreiten Sie nicht die maximale Anzahl von Zyklen für das Sequenzierungskit. Siehe *Anzahl der Zyklen* auf Seite 5.
   - » Addieren Sie einen Zyklus zur gewünschten Anzahl der Zyklen für Read 1 und Read 2. Geben Sie beispielsweise im Feld „Read 1“ den Wert **151** ein, um 150 Zyklen in Read 1 durchzuführen.
   - » Um einen Read zu überspringen, geben Sie **0** ein.
   - » In der folgenden Tabelle finden Sie die Mindest- und Standardwerte für Zyklen. Abgesehen von den Mindestgrenzen für Zyklen ermöglicht Ihnen AVITI Dx OS, die verfügbaren Zyklen nach Bedarf auf die Reads zu verteilen. Die Leistungsspezifikationen für jedes Kit basieren jedoch auf der Sequenzierung von Element-Kontroll-Libraries unter Verwendung der für das Kit spezifischen Standard-Read-Längeneinstellungen.

Library-Typ	Kit-Größe	Mindestwerte				Standardwerte			
		Index 1	Index 2	Read 1	Read 2	Index 1	Index 2	Read 1	Read 2
Drittanbieter	2 x 75	0	0	5	0	Leer	Leer	76	76
	2 x 150	0	0	5	0	Leer	Leer	151	151

9. Wählen Sie **Weiter** aus, um mit dem Bildschirm „Run auf Seite B“ oder „Reagenzien vorbereiten“ fortzufahren.
10. Wiederholen Sie gegebenenfalls die Schritte **1**–**9**, um einen Dual-Start-Run einzurichten.

Reagenzien prüfen und mischen

1. Prüfen Sie jedes Well der Kartusche, um sicherzustellen, dass die Reagenzien vollständig aufgetaut sind.
2. Stellen Sie sicher, dass die Kartusche die geeigneten Primer enthält.
3. Stellen Sie sicher, dass die Röhrchen in den Wells I1, I2, R1 und R2 fest sitzen. Drehen Sie gegebenenfalls jedes Röhrchen nach rechts.
4. Invertieren Sie die Kartusche vorsichtig ***10-mal***, um die Reagenzien zu mischen.

   VORSICHT
   Unzureichend gemischte Reagenzien können zum Fehlschlagen des Runs führen.
5. Klopfen Sie den Boden der Kartusche auf den Labortisch, um große Tropfen von den Oberseiten der Röhrchen zu entfernen.
6. Prüfen Sie die kleinen Röhrchen, um sicherzustellen, dass sich die Reagenzien am Boden abgesetzt haben.
7. Verriegeln Sie nach dem Einsetzen der Kartusche in einen sauberen Kartuschenkorb die Clips. Wischen Sie überschüssige Feuchtigkeit ab.

Benutzerdefinierte Primer zur Kartusche hinzufügen

1. Wenn Sie keine benutzerdefinierten Primer verwenden, überspringen Sie die folgenden Schritte und fahren Sie mit *Library zur Kartusche hinzufügen* fort.

2. Durchstechen Sie mit einer neuen 1-ml-Pipettenspitze die Mitte der entsprechenden Wells I1, I2, R1 und R2, um ein Loch zu erzeugen. Drücken Sie die Folie an die Ränder.
3. Entsorgen Sie die Pipettenspitze.
4. Geben Sie das entsprechende Volumen von 100 µM benutzerdefiniertem Primer in jedes durchstochene Well.

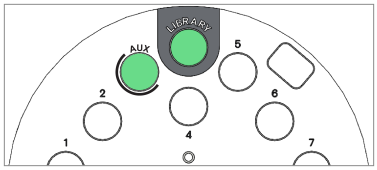
Benutzerdefinierter Primer	Volumen	Well
Index 1	19 µl	I1
Index 2	19 µl	I2
Read 1	32,4 µl	R1
Read 2	19 µl	R2

—Die Endkonzentration jedes benutzerdefinierten Primers beträgt 1 µM.—

5. Pipettieren Sie den Inhalt jedes Röhrchens zum Mischen 15-mal. Vermeiden Sie den Verlust des vorhandenen Primer-Volumens.

Library zur Kartusche hinzufügen

1. Durchstechen Sie mit einer neuen 1-ml-Pipettenspitze das Library-Well in der Mitte, um ein Loch zu erzeugen. Drücken Sie die Folie an die Ränder.



2. Entsorgen Sie die Pipettenspitze.
3. Zentrifugieren Sie die verdünnte Sequenzierungs-Library kurz, um Blasen und Schaum vom Röhrchendeckel zu entfernen.
4. Übertragen Sie das gesamte Volumen der verdünnten Sequenzierungs-Library in das Library-Well und geben Sie es entlang der Well-Wand ab.
   - » Vermeiden Sie das Ansaugen von Schaum und das Abgeben von Luft.
   - » Achten Sie darauf, dass die Library nicht mit der Folie in Kontakt kommt.
   - » Stellen Sie sicher, dass das Röhrchen ≥ 1,3 ml verdünnte Sequenzierungs-Library enthält.
5. Wenn Sie das Add-on „Individuell adressierbare Lanes“ verwenden, wiederholen Sie die Schritte **1**–**4** mit dem AUX-Well und der zweiten Library.

   —Die Library für das AUX-Well enthält die Proben für Lane 2 im Run-Manifest.—

   VORSICHT
   Das Übertragen einer Library in das AUX-Well einer inkompatiblen Kartusche beschädigt die Library und die Kartusche. Weitere Informationen zur Kompatibilität des Add-Ons „Individuell adressierbare Lanes“ finden Sie im Benutzerhandbuch für Ihr Gerät.
6. Inspizieren Sie das Library-Well durch das Fenster an der Vorderseite des Korbs.
   - » Stellen Sie sicher, dass die Library frei von Schaum ist und nur minimale Blasen vorhanden sind.
   - » Wenn unter der Oberfläche ein Luftspalt zu sehen ist, entfernen Sie ihn mit einer neuen Pipettenspitze.
7. Wenn die Kartusche Versandverriegelungen umfasst, drehen Sie jede Versandverriegelung nach links, um sie zu entriegeln, und entfernen Sie sie vom Kartuschendeckel.

Reagenzienvorbereitung bestätigen

1. Aktivieren Sie das Kontrollkästchen **Kartusche invertieren**, um zu bestätigen, dass die Reagenzien gemischt sind.

2. Aktivieren Sie das Kontrollkästchen **In Korb einsetzen**, um zu bestätigen, dass sich die Kartusche im Kartuschenkorb befindet.
3. Aktivieren Sie die Kontrollkästchen zum Laden der Library, um zu bestätigen, dass die Kartusche die verdünnte Library enthält.
4. Wählen Sie **Weiter** aus, um mit dem Bildschirm „Reagenzien einsetzen“ fortzufahren.

Reagenzien und Puffer einsetzen

1. Öffnen Sie die Reagenzienfachtür.
2. Entfernen Sie alle Materialien aus dem Reagenzienfach und legen Sie sie beiseite.
3. Schieben Sie den Korb mit der aufgetauten Kartusche bis zum Anschlag in das Reagenzienfach.
4. Stützen Sie die Pufferflasche mit beiden Händen und schieben Sie sie bis zum Anschlag in das Reagenzienfach.
5. Schließen Sie die Reagenzienfach-Tür und wählen Sie **Weiter**, um fortzufahren.

Abfall leeren

1. Öffnen Sie die Abfallfachtür.
2. Schrauben Sie die Transportkappe vom Kappenhalter über dem Abfallfach ab.
3. Nehmen Sie die Abfallflasche aus dem Abfallfach und schließen Sie die Transportkappe.

   VORSICHT
   Der Inhalt der Abfallflasche gilt als Gefahrstoff. Entsorgen Sie Abfall gemäß den örtlichen, bundesstaatlichen und regionalen Gesetzen und Vorschriften.

4. [Optional] Setzen Sie einen Trichter in einen Abfallbehälter ein. Stellen Sie sicher, dass der Trichter sicher sitzt.
5. Öffnen Sie die Transport-Kappe und die Entlüftungskappe.
6. Stützen Sie die Abfallflasche mit beiden Händen ab und entleeren Sie den Abfall:
   a. Positionieren Sie die Flasche über dem Trichter oder Abfallbehälter.
      - Wenn Sie einen Trichter eingesetzt haben, richten Sie den Griff an der Innenkante des Trichters aus.
      - Wenn Sie keinen Trichter eingesetzt haben, zentrieren Sie den Griff über dem Abfallbehälter.
   b. Kippen Sie die Flasche nach vorne und lassen Sie sie ablaufen. Drehen Sie die Flasche um und schütteln Sie sie, um alle Tropfen auszustoßen.
   c. Wischen Sie bei Bedarf Flüssigkeit von der Flasche ab.
7. Schließen Sie die Entlüftungskappe und setzen Sie die leere Abfallflasche wieder in das Abfallfach ein.
8. Schrauben Sie die Transportkappe auf den Kappenhalter und schließen Sie die Tür des Abfallfachs.

Reagenzien primen

1. Bringen Sie eine neue Cloudbreak Freestyle Dx-Flow Cell auf Raumtemperatur:
   a. Nehmen Sie einen Flow Cell-Beutel aus der Lagerung bei 2 °C bis 8 °C. ***Den Beutel nicht öffnen.***
   b. Legen Sie den Beutel mindestens 5 Minuten beiseite.

   HINWEIS
   Wenn Sie das Run-Setup vor dem Priming verwerfen müssen, entfernen Sie die Kartusche, korrigieren Sie das Run-Setup nach Bedarf und laden Sie dieselbe Kartusche erneut. Fahren Sie mit dem Priming-Schritt fort.

2. Wählen Sie **Weiter** aus, um das Priming ***automatisch*** zu starten.

   Das Priming dauert ca. 5 Minuten bzw. in großen Höhen bis zu 8 Minuten.
3. Wenn das Priming abgeschlossen ist, wählen Sie **Weiter** aus, um mit dem Bildschirm „Flow Cell einsetzen“ fortzufahren.

   AVITI Dx OS fährt das Nest nach vorne und öffnet die Nest-Fachtür. Eine kurze Verzögerung ist normal.

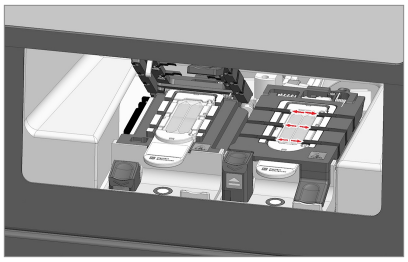
HINWEIS
Wenn Sie das Run-Setup nach dem Priming und vor dem Laden einer neuen Flow Cell verwerfen müssen, entfernen Sie die Kartusche, korrigieren Sie das Run-Setup nach Bedarf und laden Sie dieselbe Kartusche erneut. Fahren Sie mit dem Einsetzen der Flow Cell fort.

Flow Cell einsetzen

1. Stellen Sie sicher, dass die Statusanzeige des Nests blau leuchtet.
2. Um den Deckel zu öffnen, drücken Sie die Taste links neben dem Nest vollständig nach unten, bis sie den Anschlag erreicht. Wird die Taste nicht vollständig nach unten gedrückt, kann dies beim Schließen des Deckels oder bei der Ausrichtung der Flow Cell zu Fehlern führen.
3. Entfernen Sie die verwendete Flow Cell aus dem Nest. Entsorgen oder lagern Sie sie bei Raumtemperatur zur Verwendung für die Priming- oder Spülschritte.
4. Packen Sie die Cloudbreak Freestyle Dx-Flow Cell aus, bevor Sie sie in das Nest-Fach einsetzen. Stellen Sie sicher, dass die Flow Cell innerhalb von 2 Stunden verwendet wird.

   Fassen Sie die Flow Cell ausschließlich am Greifer an. Falls während oder nach dem Öffnen der Verpackung Verunreinigungen auf die Oberfläche der Flow Cell gelangen, reinigen Sie die Oberfläche vorsichtig zuerst mit einem Ethanoltuch und anschließend mit einem Linsenreinigungstuch.

   VORSICHT
   Das Berühren des Glases kann zu Verunreinigungen, Schlieren und Kratzern führen und die Datenqualität beeinträchtigen.
5. Richten Sie das Etikett nach oben aus und platzieren Sie die Flow Cell über den drei Positionierstiften des Nest-Fachs.



6. Drücken Sie die Lasche auf der rechten Seite des Deckels nach unten, bis der Deckel einrastet.
7. Stellen Sie sicher, dass die sechs Stifte bündig mit der Flow Cell abschließen.

   —Die Nest-Statusleuchte leuchtet grün, wenn der Deckel vollständig geschlossen ist.—

   HINWEIS
   Eine rote Statusleuchte zeigt an, dass die Flow Cell nicht ordnungsgemäß eingesetzt ist: Der Deckel ist offen oder das Nest-Fach ist leer. Setzen Sie die Flow Cell erneut ein, um das Problem zu beheben. Wenn die Statusleuchte nach dem ordnungsgemäßen Einsetzen der Flow Cell weiterhin rot leuchtet, wenden Sie sich an den technischen Support von Element.
8. Wählen Sie **Nest schließen**, um die Nest-Fachtür zu schließen und den Probentisch einzufahren.
9. Wählen Sie **Weiter** aus, um mit dem Bildschirm „Run-Zusammenfassung“ fortzufahren.

Run überprüfen und starten

1. Überprüfen Sie auf der Seite „Details“ die Run-Parameter:

Parameter	Beschreibung
Library	Der Workflow, mit dem die Libraries vorbereitet wurden, und der Library-Typ
Sequenzierungskit	Die Größe und Version des Sequenzierungskits
Speicher	Der Speicherort, an dem der Sequenzierungs-Output gespeichert wird
Manifest	Der Dateiname des hochgeladenen Run-Manifests, sofern zutreffend
Zyklen	Die Anzahl der Zyklen in jedem Read
Beschreibung	Eine optionale Beschreibung des Runs
Erweitert	Sofern zutreffend, die erweiterten Run-Einstellungen für den Run

HINWEIS
Wenn Ihnen Fehler beim Run-Setup auffallen, lesen Sie die Anleitung in der Knowledge Base, um den Run zu verwerfen, den Priming-Schritt zu überspringen und den Run-Setup-Vorgang neu zu starten.

2. Überprüfen Sie die Informationen zu Flow Cell, Kartusche und Pufferflasche:

Feld	Beschreibung
Chargennummer	Die Nummer, die der Charge zugewiesen wurde, mit der das Verbrauchsmaterial hergestellt wurde
Läuft ab am	Jahr, Monat und Datum, an dem das Verbrauchsmaterial abläuft
Seriennummer	Die eindeutige Kennung oder ausschließlich Nullen, die auf einen nicht gescannten Barcode hinweisen
Teilenummer	Die von Element zugewiesene Kennung für das Verbrauchsmaterial

3. Wählen Sie **Run**, um die Sequenzierung zu starten.
4. [Optional] Wenn Sie Run-Manifeste von einem USB-Laufwerk importiert haben, trennen Sie das USB-Laufwerk:
   a. Wählen Sie in der Taskleiste **USB-Laufwerk** und anschließend **Auswerfen**.
   b. Trennen Sie das USB-Laufwerk vom Gerät.
5. Verarbeiten Sie die aus dem Reagenzienfach entfernten Materialien:
   » Befolgen Sie für eine verwendete Kartusche und Pufferflasche die Anweisungen unter *Kartusche und Flasche entsorgen* auf Seite 20.
   » Befolgen Sie für eine Spülschale die Richtlinien im Benutzerhandbuch für Ihr Gerät. Restflüssigkeit in der Spülschale ist normal.

Run-Metriken überwachen

1. Wählen Sie bei Bedarf **Details** aus, um die Run-Details zu öffnen.
2. Überwachen Sie die Run-Metriken, sobald sie auf dem Bildschirm angezeigt werden. AVITI Dx OS zeigt den Zyklus an, bei dem die Metriken voraussichtlich angezeigt werden.

   —Die erwarteten Zyklen sind Näherungswerte, und alle Metriken sind Schätzwerte. Bases2FastqDx erzeugt die endgültigen Metriken.—
3. Überwachen Sie den Run weiterhin, während AVITI Dx OS die Metriken aktualisiert.
   » Mit jedem Zyklus werden die Q-Scores, Fehlerraten, Basenzusammensetzungen und Index-Metriken aktualisiert.
   » Wenn Sie das Add-On „Individuell adressierbare Lanes“ verwenden, zeigt AVITI Dx OS Metriken für jeden Library-Pool an.
   » AVITI Dx OS aktualisiert die Yield- und Reads-Metriken nach Zyklus 15 von Read 2:

- Wenn Read 2 keine Zyklen enthält, werden die Metriken nach Zyklus 15 von Read 1 aktualisiert.
- Wenn Read 1 oder Read 2 weniger als 15 Zyklen enthalten, werden die Metriken aktualisiert, wenn der letzte Zyklus beginnt.

4. Wenn der Run abgeschlossen ist, belassen Sie alle Materialien auf dem Gerät.
   » Um zur Ansicht Details zurückzukehren, wählen Sie **Übersicht** aus.
   » Um auf Run-Daten zuzugreifen, navigieren Sie zu Ihrem Speicherort.

Flexiblen Start initiieren

Der flexible Start bietet die Möglichkeit, einen Run oder eine Wiederherstellungsspülung zu starten, während ein anderer Run ausgeführt wird. AVITI Dx OS pausiert den Run auf der benachbarten Seite sicher.

1. Wählen Sie auf dem Startbildschirm **Neuer Run** aus.
2. Wenn Sie aufgefordert werden, einen flexiblen Start anzufordern und den aktiven Run zu pausieren, wählen Sie **Neuer Run** aus.

Schritt	Geschätzte Wartezeit bis zur Pausierung*
Amplifikation	2 Stunden
Index 1, Index 2, Read 1 oder Read 2	Wenige Minuten
Wenden	30 Minuten
Spülung	1 Stunde

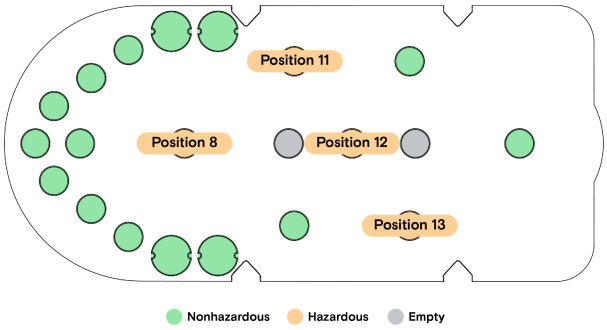
* Die Schätzwerte gelten für 2 x 75- und 2 x 150-Runs mit Cloudbreak Freestyle Dx-Chemie.

3. Warten Sie, bis der Run pausiert wird.
   » Um den flexiblen Start während der Wartezeit abzubrechen, wählen Sie **Anfrage abbrechen** aus.
   » Wenden Sie sich an den Technischen Support von Element, wenn die Wartezeit beim Amplifikationsschritt 5 Stunden oder bei jedem anderen Schritt 1,5 Stunden überschreitet.
4. Wenn der Run pausiert wird, führen Sie das Run-Setup durch und starten Sie den zweiten Run oder die Wiederherstellungsspülung.
   » Anweisungen zum Run-Setup finden Sie unter *Sequenzier-Run initiieren* auf Seite 13.
   » Anweisungen zur Wiederherstellungsspülung finden Sie im Benutzerhandbuch für Ihr Gerät.
5. Um das Setup des zweiten Runs oder der Wiederherstellungsspülung abzubrechen, wählen Sie **Zurück** aus, um zum Startbildschirm zurückzukehren, und wählen Sie anschließend **Fortsetzen** aus.

Kartusche und Flasche entsorgen

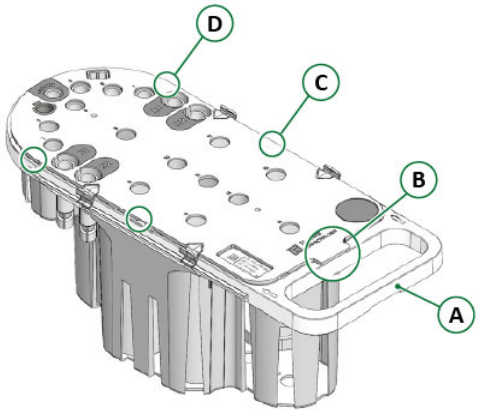
Die Kartusche und die Pufferflasche enthalten Reagenzien mit regionsspezifischen Entsorgungsanforderungen, die in den Sicherheitsdatenblättern (SDS) unter elementbiosciences.com/resources beschrieben sind. Die nach einem Run in jedem Well verbleibende Reagenzienmenge hängt von der Anzahl der im Run durchgeführten Zyklen ab.

Die folgenden Wells enthalten gefährliche Reagenzien. Die Positionsnummern in der Abbildung stimmen mit den Positionsnummern im SDS überein.



Reagenzien entsorgen

1. Belassen Sie die Kartusche im Korb und halten Sie die Clips verriegelt.
2. Halten Sie den Korbgriff mit einer Hand fest und heben Sie mit der anderen die Lasche des Kartuschendeckels an. Rechnen Sie mit Widerstand an drei Stellen.



A Korbgriff
B Lasche des Kartuschendeckels und erste Widerstandsstelle
C Zweite Widerstandsstelle auf beiden Seiten der Kartusche
D Letzte Widerstandsstelle auf beiden Seiten der Kartusche

3. Entfernen Sie die Wells mit gefährlichen Reagenzien aus der Kartusche.
   —Das in jedem Well verbleibende Volumen hängt von der Anzahl der durchgeführten Zyklen ab.—
4. Vergrößern Sie mit einer Pipettenspitze oder einem ähnlichen Werkzeug das Loch in jeder Folienversiegelung zu einem Dreieck.



5. Entleeren Sie jedes Well gemäß dem SDS in einen Behälter für Gefahrstoffe oder einen anderen geeigneten Behälter.
6. Entriegeln Sie die Clips und nehmen Sie die Kartusche aus dem Korb.
7. Entfernen Sie die verbleibenden Wells aus der Kartusche und vergrößern Sie das Loch in jeder Folienversiegelung.
8. Entleeren Sie jedes Well gemäß dem SDS in den entsprechenden Behälter.

9. Entsorgen Sie die Kartusche und die Pufferflasche gemäß dem SDS.
10. Spülen Sie den Korb mit nukleasefreiem Wasser aus und lassen Sie ihn kopfüber trocknen.

Fehlerbehebung

Die folgenden Informationen zur Fehlerbehebung behandeln Probleme, die während des Run-Setups und der Sequenzierung mit einem Cloudbreak Freestyle Dx-Kit auftreten können. Wenn ein Problem weiterhin besteht, wenden Sie sich an den Technischen Support von Element. Weitere Informationen zur Fehlerbehebung finden Sie im Benutzerhandbuch für Ihr Gerät.

Probleme beim Run-Setup

Problem	Lösung
Die Flow Cell ist gerissen, zerkratzt oder anderweitig beschädigt.	Wenden Sie sich an den Technischen Support von Element.
Kleine Partikel sind in der Lane der Flow Cell sichtbar.	Siehe *Cloudbreak Freestyle Dx-Flow-Cell-Varianten* auf Seite 27.
Der Deckel rastet nicht ein, wenn sich eine Flow Cell auf dem Nest befindet.	Entfernen Sie die Flow Cell und wischen Sie das Nest ab. Prüfen Sie die Flow Cell auf grobe Verunreinigungen und wischen Sie sie bei Bedarf mit einem Alkoholtupfer ab. Setzen Sie die Flow Cell erneut ein.
AVITI Dx OS kann eine eingesetzte Kartusche oder Abfallflasche nicht erkennen.	Befolgen Sie die Aufforderung auf dem Bildschirm, um die Kartusche oder Abfallflasche erneut einzusetzen. Stellen Sie sicher, dass das jeweilige Fach, Reagenzien oder Abfall, nicht blockiert ist und dass sich die Kartusche in einem Kartuschenkorb befindet.
Das System kann einen Barcode auf der Kartusche, der Pufferflasche oder der Flow Cell nicht scannen oder erkennen.	Befolgen Sie die Aufforderung auf dem Bildschirm, um das Verbrauchsmaterial erneut einzusetzen oder durch manuelle Eingabe der Verbrauchsmaterialinformationen fortzufahren.
Die Version der Flow Cell ist nicht mit der Kartusche kompatibel.	Setzen Sie eine Flow Cell ein, die dieselbe Version wie die Kartusche hat.

Sequenzierungsprobleme

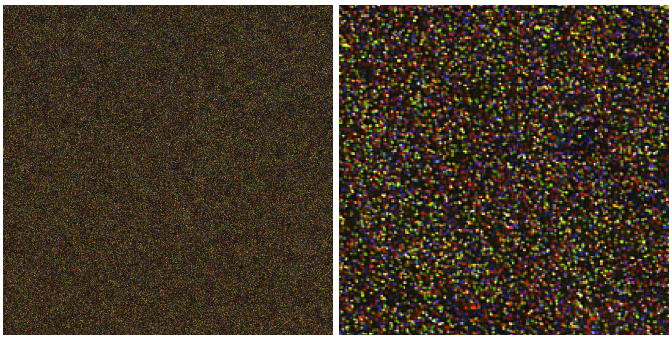
Problem	Lösung
Die Polony-Dichte ist niedriger oder höher als erwartet.	Wenden Sie sich an den Technischen Support von Element oder stoppen Sie den Run. Anweisungen zum Stoppen eines Runs finden Sie im Abschnitt zur Fehlerbehebung im Benutzerhandbuch für Ihr Gerät.
Die Metriken für zugewiesene oder perfekte Übereinstimmungen sind niedriger als erwartet.	Stellen Sie sicher, dass die im Run-Manifest aufgezeichneten Indexsequenzen korrekt sind.
Die Metrik für Proben mit geringer Repräsentation ist höher als erwartet.	Wählen Sie **Probendetails**, um die Proben mit geringer Repräsentation anzuzeigen. Stellen Sie sicher, dass die im Run-Manifest aufgezeichneten Indexsequenzen und die Pooling-Konzentration korrekt sind.

Problem	Lösung
Der Q30-Prozentsatz ist niedriger als erwartet.	Wenden Sie sich an den Technischen Support von Element.
Die PhiX-Fehlerrate ist höher als erwartet.	
Die Flow Cell enthält sehr wenige oder keine Polonys.	
Die Benutzeroberfläche ist eingefroren.	

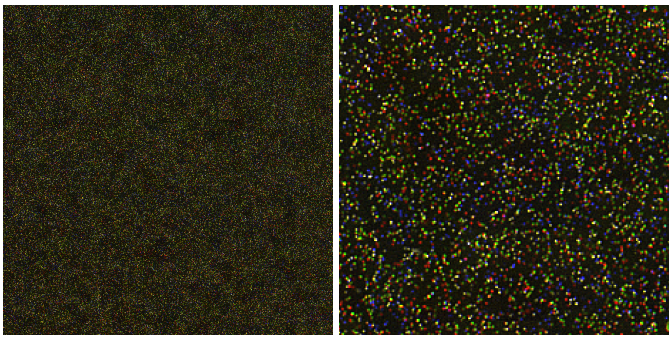
Fehlerbehebung anhand von Vorschaubildern

Die folgenden Abbildungen zeigen Beispiel-Vorschaubilder für eine Standard-Flow Cell, eine unterladene Flow Cell und eine überladene Flow Cell. Wenn das Vorschaubild eines Runs auf eine unterladene Flow Cell hinweist, erhöhen Sie die Ladekonzentration. Reduzieren Sie bei einer überladenen Flow Cell die Ladekonzentration. Wenn die Probleme weiterhin bestehen, wenden Sie sich an den Technischen Support von Element.

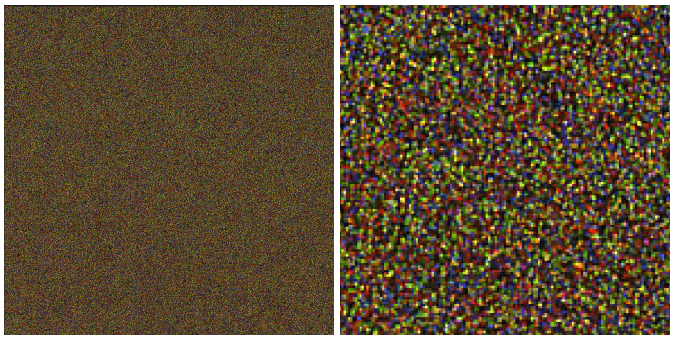
Beispiel eines erwarteten Vorschaubilds, in voller Größe und vergrößert



Beispiel eines Vorschaubilds mit Unterladung, in voller Größe und vergrößert



Beispiel eines Vorschaubilds mit Überladung, in voller Größe und vergrößert



Cloudbreak Freestyle Dx Verbrauchsmaterialien

Cloudbreak Freestyle Dx Verbrauchsmaterialien umfassen ein Sequenzierungskit sowie optionale Kontrollen und kundenspezifische Primer. Der Workflow erfordert außerdem vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien. Eine Liste der erforderlichen Geräte finden Sie im Leitfaden zur Standortvorbereitung für Ihr Gerät.

Cloudbreak Freestyle Dx-Sequenzierungskits

In den folgenden Tabellen sind die Kit-Inhalte und Lagerungsanforderungen aufgeführt. Kits enthalten jeweils ein Exemplar jeder aufgeführten Komponente. Der Beutel mit dem Library Loading Buffer enthält zwei Röhrchen. Informationen zum SDS finden Sie unter elementbiosciences.com/resources.

AVITI Dx 2 x 150 Sequenzierungskit CB Freestyle™ High Output (860-00052)

Teilenr.	Komponente	Versand	Speicher
820-00043	AVITI Dx 2 x 150 Kartusche CB Freestyle High Output	–25 °C bis –15 °C	–25 °C bis –15 °C
810-00023	AVITI Dx CB Freestyle Flow Cell	Raumtemperatur	2 °C bis 8 °C
820-00041	AVITI Dx Pufferflasche	Raumtemperatur	Raumtemperatur
820-00042	AVITI Dx Library-Ladepuffer	–25 °C bis –15 °C	–25 °C bis –15 °C

AVITI Dx 2 x 150 Sequenzierungskit CB Freestyle Low Output (860-00053)

Teilenr.	Komponente	Versand	Speicher
820-00044	AVITI Dx 2 x 150 Kartusche Cloudbreak Freestyle Low Output	–25 °C bis –15 °C	–25 °C bis –15 °C
810-00023	AVITI Dx CB Freestyle Flow Cell	Raumtemperatur	2 °C bis 8 °C
820-00041	AVITI Dx Pufferflasche	Raumtemperatur	Raumtemperatur
820-00042	AVITI Dx Library-Ladepuffer	–25 °C bis –15 °C	–25 °C bis –15 °C

AVITI Dx 2 x 75 Sequenzierungskit CB Freestyle High Output (860-00054)

Teilenr.	Komponente	Versand	Speicher
820-00045	AVITI Dx 2 x 75 Kartusche CB Freestyle High Output	–25 °C bis –15 °C	–25 °C bis –15 °C
810-00023	AVITI Dx CB Freestyle Flow Cell	Raumtemperatur	2 °C bis 8 °C
820-00041	AVITI Dx Pufferflasche	Raumtemperatur	Raumtemperatur
820-00042	AVITI Dx Library-Ladepuffer	–25 °C bis –15 °C	–25 °C bis –15 °C

PhiX Kontroll-Library

PhiX Kontroll-Library ist eine farbbalancierte, gebrauchsfertige Library, die Low-Complexity-Libraries Diversität hinzufügt. Jeder Typ von PhiX Kontroll-Library enthält eindeutige Indexsequenzen und weist eine Konzentration von 1 nM auf. Eine Liste der Sequenzen finden Sie unter *Element-Indexsequenzen*.

Teilenr.	Typ	Format	Versand und Lagerung
830-00023	Cloudbreak Freestyle PhiX Control, Drittanbieter	Linear	–25 °C bis –15 °C

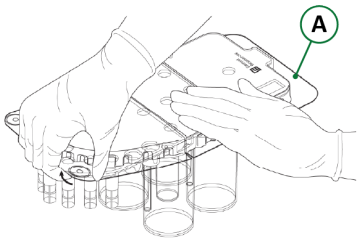
Vom Benutzer bereitzustellende Verbrauchsmaterialien und Geräte

Verbrauchsmaterialien	Lieferant
DNA LoBind-Röhrchen, 2 ml	Eppendorf, Nr. 022431021
0,2 M Tris-HCl, pH 7,0	Allgemeiner Laborlieferant
1 N NaOH	
10 mM Tris-HCl, pH 8,0 mit 0,1 mM EDTA (Low-TE-Puffer)	
Gefilterte Pipettenspitzen	
Nukleasefreies Wasser in Laborqualität	

Versandkonfiguration der Kartusche

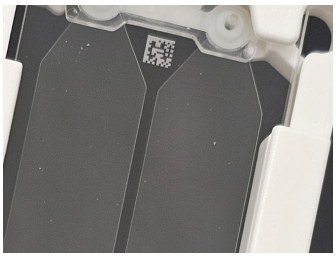
Die Cloudbreak Freestyle Dx-Sequenzierungskartusche umfasst einen Transportschutz in Form von Versandverriegelungen oder einer tiefgezogenen Versandabdeckung.

- Wenn Ihre Kartusche die tiefgezogene Versandabdeckung (**A**) umfasst, entfernen Sie die Abdeckung vor dem Auftauen der Reagenzien.



Cloudbreak Freestyle Dx-Flow-Cell-Varianten

Cloudbreak Freestyle Dx-Flow Cells können kleine Partikel innerhalb der Flow-Cell-Lane enthalten. Diese Varianten sind normal und beeinträchtigen die Datenqualität nicht.



Dokumentversionsverlauf

Revision	Beschreibung der Änderung
Juli 2026 Dokument-Nr. MA-00087 Rev. A	• Erstveröffentlichung.
Oktober 2026 Dokument-Nr. MA-00087 Rev. B	• Verweise auf das Elevate-Kit wurden aus den Abschnitten „Ladekonzentration“, „Primer-Röhrchen“, „Parameter für manuelle Runs festlegen“ und „PhiX Kontroll-Library“ entfernt. • Im Abschnitt „Flow Cell einsetzen“ wurden rote Pfeile zum Bild zum Einsetzen der Flow Cell sowie ein neuer Schritt zur Überprüfung des korrekten Sitzes der Flow Cell hinzugefügt. Außerdem wurde ein Hinweis zur Fehlerbehebung bei einer roten Statusleuchte und dazu ergänzt, wann der technische Support von Element kontaktiert werden sollte.

Technischer Support

Weitere Leitfäden und die neueste Version dieses Leitfadens finden Sie auf der Seite Benutzerdokumentation der Website von Element Biosciences. Für technische Unterstützung wenden Sie sich an den Technischen Support von Element.

Website: www.elementbiosciences.com

E-Mail: support@elembio.com

Regionale Telefonnummern: www.elementbiosciences.com/contact

Element Biosciences
10055 Barnes Canyon Road, Suite 100
San Diego, CA 92121
elementbiosciences.com
Telefon: +1 619.353.0300
E-Mail: info@elembio.com

ELEMENT BIOSCIENCES
Die Produktfamilie AVITI Dx System liefert präzise, hochwertige Rohdaten der DNA-Sequenzierung aus einer Vielzahl biologischer Proben. Das Produkt ist ausschließlich als Tool zur Datengenerierung vorgesehen und liefert keine diagnostischen Interpretationen oder direkten klinischen Empfehlungen.