

illumina®

NextSeq 1000/2000

Product Documentation

ILLUMINA PROPRIETARY

文書番号 : 200027171 v05 JPN

2025年8月

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。

本文書およびその内容は、Illumina, Inc.およびその関連会社（以下、「イルミナ」という）の所有物であり、本文書に記載された製品の使用に関連して、イルミナの顧客が契約上使用することのみを意図したものであり、その他の目的を意図したものではありません。本文書およびその内容を、イルミナの書面による事前同意を得ずにその他の目的で利用または配布してはならず、また方法を問わず、その他伝達、開示または複製してはなりません。イルミナは、本文書によって、自身の特許、商標、著作権またはコモンロー上の権利に基づくいかなるライセンスも譲渡せず、また第三者の同様の権利も譲渡しないものとします。

本文書に記載された製品の適切かつ安全な使用を徹底するため、資格を有した、適切なトレーニングを受けた使用者が、本文書の指示を厳密かつ明確に遵守しなければなりません。当該製品の使用に先立ち、本文書のすべての内容を熟読し、理解する必要があるものとします。

本文書に含まれるすべての説明を熟読せず、明確に遵守しない場合、製品を損ない、使用者または他者を含む個人に傷害を負わせ、その他の財産に損害を与える結果となる可能性があり、また本製品に適用される一切の保証は無効になるものとします。

イルミナは、本文書に記載された製品（その部品またはソフトウェアを含む）の不適切な使用から生じる責任、または、顧客による当該製品の取得に関連してイルミナから付与される明示的な書面によるライセンスもしくは許可の範囲外で当該製品が使用されることから生じる責任を一切負わないものとします。

© 2025 Illumina, Inc. All rights reserved.

すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc.または各所有者に帰属します。商標および登録商標の詳細はjp.illumina.com/company/legal.htmlをご覧ください。

目次

システムの概要	1
装置のハードウェア	1
統合ソフトウェア	4
Process Management	5
シーケンスプロトコールのダイアグラム	6
シーケンスの仕組み	6
XLEAP-SBSケミストリークリッカレンス	7
安全性およびコンプライアンス	9
安全性に関する考慮事項と標示	9
製品コンプライアンスと規制に関するステートメント	10
サイトの準備	14
ラボ要件	15
PCR手順に対するラボのセットアップ	17
電源要件	17
環境的制約	19
ネットワークの考慮事項	20
システム構成	25
ユーザーアカウント要件	25
BaseSpace Sequence HubおよびProactiveサポートの設定	28
デフォルト出力フォルダーの場所の指定	29
リファレンスゲノムのインポート	32
ノイズベースラインファイルのインポート	32
CNVコーリング用のパネルオブノーマルズファイルのインポート	34
ランモードの設定	35
装置のカスタマイズ	36
カスタムプライマー	38
カスタムプライマーの調製と添加	39
カスタムプライマーに関するランの設定	40
キット構成	41
消耗品および機器	43
シーケンス消耗品	43
補助的な消耗品	47
補助的な機器	50

XLEAP-SBSシーケンスプロトコール	51
XLEAP-SBSシーケンスに関する考慮事項.....	51
XLEAP-SBS消耗品の融解	52
装置上でのXLEAP-SBSの変性および希釈.....	54
マニュアルでのXLEAP-SBSの変性および希釈.....	54
XLEAP-SBS消耗品のカートリッジへのロード.....	54
XLEAP-SBSシーケンスランの開始.....	56
XLEAP-SBSポストラン作業の実施.....	62
スタンダードSBSのシーケンスプロトコール	69
スタンダードSBSのシーケンスに関する考慮事項.....	69
スタンダードSBS消耗品の融解	70
装置上でのスタンダードSBSの変性および希釈	72
マニュアルでのスタンダードSBSの変性および希釈	72
スタンダードSBS消耗品のカートリッジへのロード	72
スタンダードSBSのシーケンスランの開始	74
スタンダードSBSのポストラン作業の実施	80
シーケンスの出力	86
Real-Time Analysisの概要	86
Real-Time Analysisのワークフロー	88
シーケンス出力ファイル	89
DRAGENによる二次解析の出力ファイル	90
DRAGENによる二次解析の出力フォルダーの構成	98
メンテナンス	101
Preventive Maintenance (PM)	101
ハードドライブスペースのクリア	101
ソフトウェアのアップデート	101
DRAGENワークフロー	103
エアフィルターの交換	104
トラブルシューティング	107
エラーメッセージの解消	107
消耗品を冷蔵庫に戻す	107
ランの取り消し	108
ランのリキュー	109
装置の再起動	109
システムチェックの実施	110
インストール済みイメージの取得	111
取得したイメージの回復	111

リソースおよび参考資料	112
ダークサイクルシーケンス	112
Sample Sheet v2リソース	114
改訂履歴	115

システムの概要

このセクションでは、Illumina® NextSeq™ 1000/2000システムの概要（ハードウェア、ソフトウェア、データ解析に関する情報など）について説明します。また、本文書全体で使用されている主要な概念と用語をまとめています。詳細な仕様、データシート、アプリケーション、関連製品については、[イルミナサポートサイト](#)にあるNextSeq 1000/2000システム製品ページを参照してください。

機能

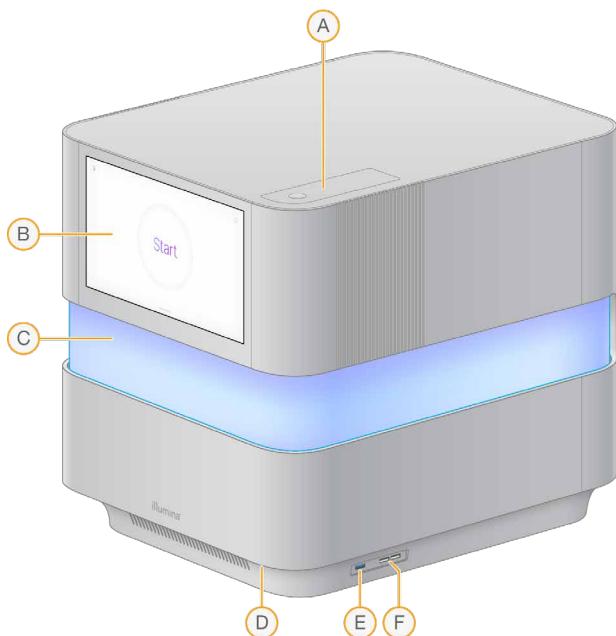
- XLEAP-SBS：NextSeq 1000/2000は、XLEAP-SBSケミストリーを使用してシーケンスランを実行できるようになりました。この新世代のシーケンステクノロジーは、[7ページの「XLEAP-SBSケミストリークリックリファレンス」](#)に記載されている互換性のあるソフトウェアでのみ使用できます。
- アクセスのしやすさと高い信頼性：NextSeq 1000/2000は、DRAGENによるローカル解析と、装置上の変性および希釈機能を備えています。装置のメンテナンスを容易にするため、イメージングモジュールはシステムに統合され、フレイディクスコンポーネントは消耗品に組み込まれています。
- 1回のステップで消耗品をロード：使い捨てのカートリッジには、ランに必要なすべての試薬があらかじめ充填されています。ライブラリーとフローセルをカートリッジに直接ロードした後、カートリッジを装置にロードします。RFIDが統合されており、正確な追跡が可能です。
- NextSeq 1000/2000ソフトウェア：統合されたソフトウェアスイートが動作の制御やイメージの処理を行い、ベースコールを生成します。
 - クラウドモード：BaseSpace Sequence Hub上のRun Planningを使用してランを計画します。選択した解析ワークフローがクラウドで自動的に開始されます。ランデータと解析結果もクラウドで提供されます。
 - ハイブリッドモード：BaseSpace Sequence Hub上のRun Planningを使用してランを計画します。選択した解析ワークフローが装置上のDRAGENソフトウェアを介して開始されます。
 - ローカルモード：サンプルシートv2ファイル形式を使用してローカルでランを計画します。選択した解析ワークフローが装置上のDRAGENソフトウェアを介して自動的に開始されます。
[Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、ランの完了後にBaseSpace Sequence Hubアプリを介してマニュアルで解析を開始することもできます。
 - スタンドアロンモード：サンプルシートを使用せずにランを計画します。

安全性検討事項

本システムで何らかの操作を行う前に、[9ページの「安全性およびコンプライアンス」](#)をお読みください。

装置のハードウェア

NextSeq 1000/2000システムは、電源ボタン、モニター、ステータスバー、消耗品コンパートメント、USBポートから構成されています。

図 1 外部システムコンポーネント

- A. エアフィルターコンパートメント**：交換可能なエアフィルターにアクセスできます。
- B. タッチスクリーンモニター**：Control Softwareインターフェースから装置の設定およびセットアップができます。視野角を調節するには、モニターを手動で傾けます。
- C. ステータスバー**：ワークフローの進捗状況に合わせて光の色が変化します。青と紫は動作中であること（プレランチェックなど）を示し、マルチカラーは確認するべき事象やデータがあること（シーケンスの完了など）を示します。赤い光は重大なエラーを示します。
- D. 電源ボタン**：装置の電源を制御します。システムがオンの場合は点灯、オフの場合は消灯し、システムはオフであるが電源トグルスイッチがオンになっている場合は点滅します。
- E. USB 3.0ポート**：データ転送用の外部ポータブルドライブを接続します。
- F. USB 2.0ポート**：マウスとキーボードを接続します。

電源と補助装置の接続

装置をゆっくりと動かすことで、装置の背面にある電源スイッチ、USBポート、その他の補助装置の接続部にアクセスできます。

装置の背面には、電源コードの差込口（インレット）、装置への電力供給を制御するスイッチ、オプションのイーサネット接続用のイーサネットポート（2つ）があります。USB 3.0ポートには、必要に応じてデータ転送用の外部ポータブルドライブを接続できます（このLinuxベースのプラットフォームでは、exFATはサポートされていません）。

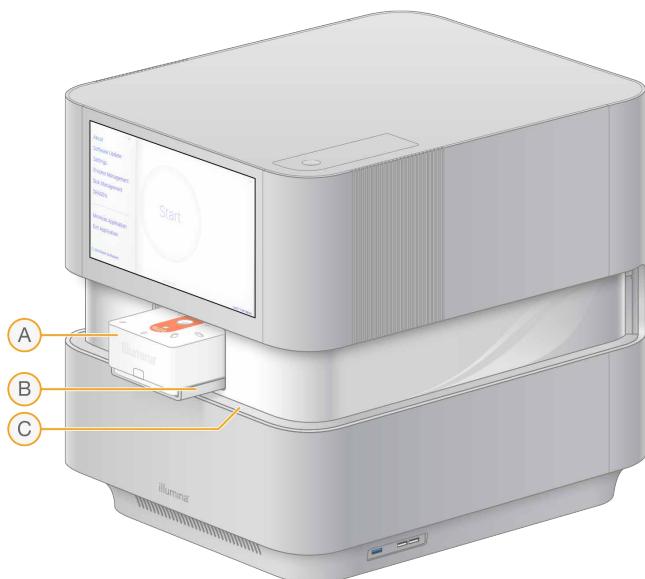
NextSeq 1000/2000システムにはイーサネットポートが2つ搭載されており、システムの機能と柔軟性が向上します。例えば、一方のイーサネットポートを内部ネットワークドライブとの通信に使用し、もう一方をBaseSpace Sequence HubやProactiveサポートなどの外部通信に使用できます。

図 2 背面パネルコンポーネント

- A.** トグルスイッチ：装置への電力供給をオンまたはオフにします。
- B.** 電源インレット：電源コードの接続用です。
- C.** イーサネットポート（2つ）：オプションのイーサネットケーブルを接続します。
- D.** USB 3.0ポート：データ転送用の外部ハードドライブを接続します。

消耗品コンパートメント

消耗品コンパートメントには、シーケンスランを実行するときにフローセルと希釈済みライブラリーを含むカートリッジが収納されます。

図 3 ロードした消耗品コンパートメント

- A.** カートリッジ：フローセル、ライブラリー、試薬が含まれており、ラン中に使用済み試薬を回収します。
- B.** トレイ：シーケンス中にカートリッジを保持します。
- C.** バイザー：消耗品コンパートメントにアクセスするときを開きます。

統合ソフトウェア

システムソフトウェアスイートには、シーケンスランおよび解析を実行するアプリケーションが統合されています。

- **NextSeq 1000/2000 Control Software** : 装置の動作を制御し、システムの設定、シーケンスランのセットアップ、シーケンス進行中のラン統計のモニタリングを行うためのインターフェースを提供します。NextSeq 1000/2000 Control Software v1.5以降では、Sequencing Analysis Viewer (SAV) v2.5.12以降を使用してください。
- **Real-Time Analysis (RTA)** : ラン実行中にイメージ解析およびベースコーリングを実施します。詳細については、[86ページの「シーケンスの出力」](#) を参照してください。
- **Universal Copy Service** : ランフォルダーにあるシーケンス出力ファイルをBaseSpace Sequence Hub (該当する場合) および出力フォルダーにコピーします。コピー先でこれらの出力ファイルにアクセスできます。
- **DRAGEN** : アプリケーションの一部のメニューのために、ハードウェアアクセラレーションを利用した二次解析を実行します。

コントロールソフトウェアは、インタラクティブに操作できるだけでなく、自動バックグラウンドプロセスも実行します。Real-Time AnalysisとUniversal Copy Serviceは、バックグラウンドプロセスのみを実行します。

システム情報

左上にあるControl Softwareのメニューを選択し、 [About] セクションを開きます。 [About] セクションには、イルミナの問い合わせ情報と、以下のシステム情報が表示されます。

- 装置のシリアルナンバー
- コンピューター名
- システムスイートのバージョン
- イメージOSのバージョン
- 総ラン数

注意事項およびアラート

注意事項アイコンは右上にあります。警告またはエラーが発生すると、画面の右側にパネルが現れて注意事項が表示されます。注意事項アイコンは一つでも選択できます。このアイコンを選択すると、現在の注意事項または注意事項の履歴のリストが表示され、警告とエラーを確認できます。

- 警告は注意する必要がありますが、ランを停止する必要はありません。確認以外の操作は不要です。
- エラーはランの開始前または進行中に対処する必要があります。

Control Softwareの最小化

他のアプリケーションにアクセスする際は、Control Softwareを最小化します。例えば、File Explorerを使用して出力フォルダーを見るときやサンプルシートを探すときに最小化します。

1. Control Softwareのメニューから **[Minimize Application]** を選択します。
Control Softwareが最小化されます。
2. Control Softwareを最大化するには、ツールバーから **[NextSeq 1000/2000 Control Software]** を選択します。

Process Management

[Process Management] 画面には、/usr/local/illumina/runsに保存されている一時的なランが表示されます。各ランは、ランの日付、名前、IDで識別します。ラン、二次解析、出力フォルダー、クラウドのステータスなどの情報も、ランごとに表示されます。ランを選択して、ワークフローや品質メトリクスに関する詳細（% Q30以上の平均値、PF全リード、総収量など）を見ることができます。ランを削除してスペースを空けるには、[101ページの「ハードドライブスペースのクリア」](#)を参照してください。装置上の解析をリキューするには、[109ページの「ランのリキュー」](#)を参照してください。

Run Status

このセクションには、シーケンスランのステータスが表示されます。

- **In Progress** : シーケンスランが進行中です。
- **Complete** : シーケンスランが完了しました。
- **Stopped** : シーケンスランが停止しました。
- **Errored** : シーケンスランにエラーがあります。

Secondary Analysis Status

このセクションには、装置に搭載されているDRAGENによる二次解析のステータスが表示されます。解析がBaseSpace Sequence Hubで行われている場合、このセクションには [N/A] と表示されます。

- **Not Started** : DRAGENによる解析はまだ開始されていません。
- **In Progress** : DRAGENによる解析が進行中です。
- **Stopped** : DRAGENによる解析が停止しました。
- **Errored** : DRAGENによる解析にエラーがあります。
- **Complete** : DRAGENによる解析が完了しました。

Output Folder Status

このセクションには、出力フォルダーにコピーされるファイルのステータスが表示されます。

- **In Progress** : ファイルが出力フォルダーにコピーされています。
- **Complete** : ファイルが出力フォルダーに正常にコピーされました。

Cloud (BaseSpace Sequence Hub) Status

このセクションには、クラウド経由でBaseSpace Sequence Hubにアップロードされるファイルのステータスが表示されます。

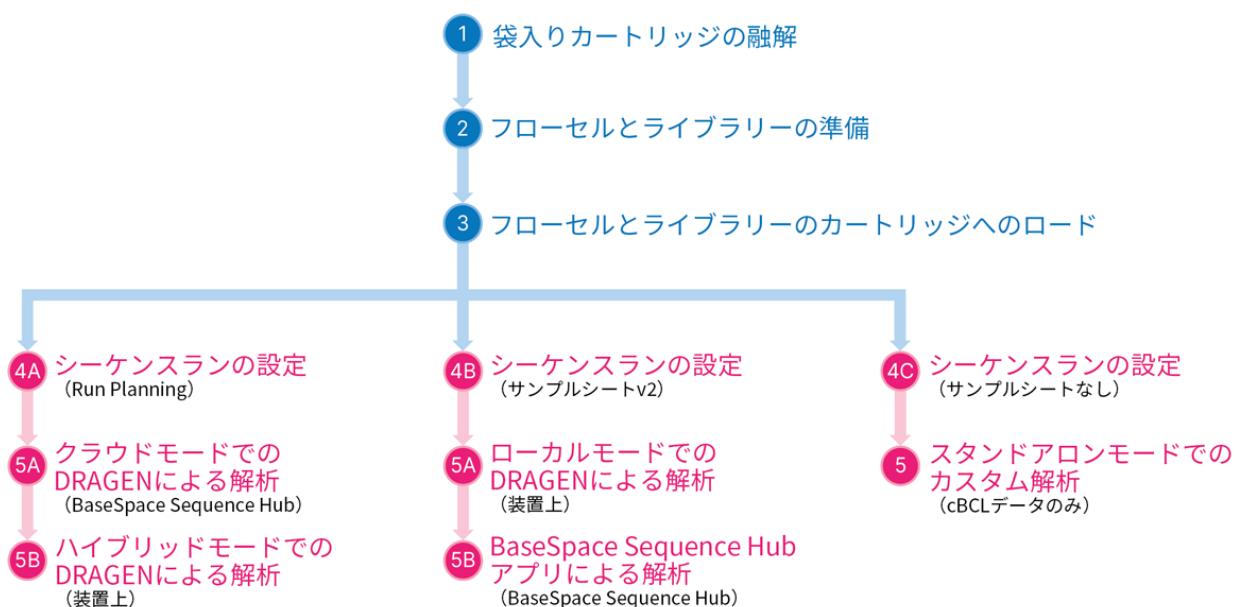
- **In Progress** : Control SoftwareによってファイルがBaseSpace Sequence Hubにアップロードされています。
- **Complete** : ファイルがBaseSpace Sequence Hubに正常にアップロードされました。

ステータス問題のトラブルシューティング

- ランが進行中の場合は、いったん [Process Management] 画面を閉じ、5分ほど待ってから再び画面を開きます。
- ランが進行中ではない場合は、装置を再起動した後、 [Process Management] 画面を再び開きます。[109ページの「装置の再起動」](#) を参照してください。
- 問題が解決しない場合は、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。

シーケンスプロトコールのダイアグラム

次のダイアグラムは、NextSeq 1000/2000によるシーケンスの手順を示します。



シーケンスの仕組み

NextSeq 1000/2000システムでのシーケンスは、クラスター形成、シーケンス、解析のステップで構成されています。それぞれのステップはシーケンスランの実行中に自動的に行われます。システム設定によっては、ランの完了後に装置外で引き続き解析が実行されます。

クラスター形成

ライブラリー¹は装置上で自動的に一本鎖に変性され、さらに希釈されます。クラスター形成中、単一DNA分子がフローセルの表面に結合し、増幅されてクラスター²を形成します。クラスター形成には約4時間かかります。

シーケンス

2色チャネルケミストリー（緑チャネルと青チャネル）を使ってクラスターをイメージングし、4つのヌクレオチドの情報をエンコードします。フローセル上の1つのタイルのイメージングが終了した後、次のタイルがイメージングされます。このプロセスがシーケンスサイクルごとに繰り返されます。イメージ解析の後、Real-Time Analysisソフトウェアがベースコーリング³、フィルタリング、およびクオリティスコアリング⁴を行います。

一次解析

ランの実行中に連結ベースコールファイル⁵ (*.cbcl) が作成され、データ解析のために指定した出力フォルダーに自動的に転送されます。シーケンスラン中に、Real-Time Analysisソフトウェアによってイメージ解析とベースコーリングが行われます。シーケンスが完了すると、二次解析が開始されます。データの二次解析の方法は、選択したアプリケーションとシステム設定によって異なります。

二次解析

最初の一次解析が完了すると、選択した解析モードで使用可能ないずれかの解析パイプラインを使用して、DRAGENが二次解析を実行します。

- BaseSpace Sequence Hubの詳細については、『BaseSpace Sequence Hub Online Help』を参照してください。
- DRAGENの詳細については、DRAGEN Bio-IT Platformのサポートページを参照してください。
- すべてのアプリケーションの概要については、『BaseSpace Apps』を参照してください。

XLEAP-SBSケミストリークリッカレンス

このセクションでは、XLEAP-SBSケミストリーを使用する場合に、ユーザーによるNextSeq 1000/2000システムの操作にどのような影響が生じるかについて概要を説明します。XLEAP-SBSケミストリーを使用する場合に従う必要がある互換性要件と手順変更があります。ここでは、それらの互換性要件と手順変更の概要について説明します。詳細については、51ページの「XLEAP-SBSシーケンスプロトコール」を参照してください。

¹シーケンス用にアダプターが付加されたDNAまたはRNA由来のサンプル。調製方法にはさまざまなものがあります。

²1つのシーケンスリードを生成する、フローセルの単一クローニングのDNA鎖のグループ。フローセル上の個々のDNA鎖がテンプレートのシードとなり、これが増幅されて数百、数千のコピーからなるクラスターが形成されます。例えば、10,000のクラスターからなるフローセルは、10,000のシングルリード、または20,000のペアエンドリードを産出します。

³特定のサイクルにおいて、1つのタイル上にあるすべてのクラスターの塩基（A、C、G、T）を決定します。

⁴ベースコールごとに一連のクオリティ予測因子を計算し、その値を基にQスコアを割り当てます。

⁵各シーケンスサイクルのクラスターごとに、ベースコールと関連するクオリティスコアが含まれます。

以下のソフトウェアアップデートは、お客様がインストールできます。オンラインおよびオフラインでのインストール手順については、[イルミナサポートサイト](#)の『NextSeq 1000/2000 Control Software v1.7 Customer Release Notes』を参照してください。

互換性要件

ソフトウェア

- NextSeq 1000/2000 Control Software v1.7以降。ソフトウェアのインストーラーとインストール手順については、[イルミナサポートサイト](#)のソフトウェアダウンロードページを参照してください。
 - DRAGEN v4.2以降。ソフトウェアのインストーラーとインストール手順については、[イルミナサポートサイト](#)のソフトウェアダウンロードページを参照してください。
- !** | NextSeq 1000/2000 Control Software v1.7以降は、DRAGEN v4.2以降にのみ対応しています。両方のソフトウェアアップデートを同時にインストールしてください。それらのソフトウェアアップデートをインストールすると、元に戻すことはできません。

リファレンスゲノム

- DRAGEN v4.2 v9 Reference Genome。[イルミナサポートサイト](#)にあるProduct Filesページからダウンロードしてください。

手順変更

- ローディング濃度とサイクル数が変更されました。[51ページの「XLEAP-SBSシーケンスに関する考慮事項」](#)を参照してください。
- XLEAP-SBS消耗品の必要な融解時間は異なります。[52ページの「XLEAP-SBS消耗品の融解」](#)を参照してください。
- 装置上での変性および希釀の手順が変更されました。[「Denature and Dilute Protocol Generator」](#)を参照してください。
- カートリッジの準備手順に、気泡を減らし、カートリッジのコンポーネントを安定させるステップと、転倒混和をゆっくりと実施する記載が追加されました。[54ページの「カートリッジの準備」](#)を参照してください。
- XLEAP-SBSケミストリーのシーケンス品質と正確さの向上を反映するために、Qテーブルのビニングが更新されました。[88ページの「Real-Time Analysisのワークフロー」](#)を参照してください。
- XLEAP-SBS用の新しいカスタムプライマー。[38ページの「カスタムプライマー」](#)を参照してください。
- XLEAP-SBS用の新しいダークサイクルレシピ。[112ページの「ダークサイクルシーケンス」](#)を参照してください。

安全性およびコンプライアンス

このセクションでは、NextSeq 1000/2000システムの設置、アフターサービス、および操作に関する重要な安全性情報を示します。また、製品コンプライアンスと規制に関するステートメントも提供します。本システムで何らかの操作を行う前に、この情報をお読みください。

本システムの生産国および製造日は、本装置に貼付されているラベルに記載されています。

本装置の環境に関する仕様については、[19ページの「環境的制約」](#) を参照してください。

安全性に関する考慮事項と標示

このセクションでは、本装置の設置、アフターサービス、および操作に関する潜在的な危険について説明します。これらの危険がご自身に及ぶような形で本装置に触れたり操作したりしないでください。

全般的な安全性に関する警告

すべての使用者が、必ず本装置の正しい操作方法と安全性に関する考慮事項に関する訓練を受けるようにしてください。



このラベル表示のある区域で作業する際は、使用者または本装置へのリスクを最小限に抑えるため、すべての作業指示に従ってください。

レーザーの安全性に関する警告



NextSeq 1000/2000システムはクラス1のレーザー製品であり、クラス4レーザーを3つ搭載しています。

クラス4レーザーは直接光も拡散反射光も目に対して危険です。クラス4レーザー放射の直接光または反射光に目や皮膚を曝露させないようにしてください。クラス4レーザーは可燃性物質の発火を引き起こす恐れがあり、直接的な曝露により重度の皮膚火傷や皮膚損傷を起こすことがあります。

パネルを取り外した状態で本装置を操作しないでください。バイザーが下がっている場合、安全インターロックスイッチにより、レーザーエンジンへの電源が遮断されます。パネルを取り外した状態で本装置を操作する場合、レーザーの直接光または反射光に曝露するリスクが生じます。

電気の安全性に関する警告

本装置の外部パネルを取り外さないでください。ユーザーが点検できるコンポーネントは装置内部にありません。パネルを取り外した状態で本装置を操作すると、線間電圧および直流電圧に曝露する恐れがあります。感電を防ぐため、ピエゾカバーを外さないでください。このカバーを外すことはできません。このカバーは120ボルトDCへの曝露を防ぎます。



本装置は、100~240ボルトACで駆動し、50~60 Hzで作動します。背面および側面のパネルには危険な電圧源がありますが、他のパネルを取り外さない限りその電圧源に曝露することはありません。本装置の電源が入っていない状態でも、装置に電圧が供給されています。感電防止のため、本装置の操作は、すべてのパネルが取り付けられている状態で行ってください。

電源コードの仕様と保護接地およびヒューズに関する情報については、[17ページの「電源要件」](#)を参照してください。

高温面の安全性に関する警告



パネルを取り外した状態で本装置を操作しないでください。

重い物体の安全性に関する警告



本装置の重量はおよそ141 kg (311ポンド)、サーバーの重量はおよそ16.1 kg (35ポンド)であり、落下したり取り扱いを誤ったりすると重篤な損傷を受ける可能性があります。

機械の安全性に関する警告

試薬カートリッジのロード中または排出中に、LEDバイザーに指を近づけないでください。

製品コンプライアンスと規制に関するステートメント

製品認証およびコンプライアンス

NextSeq 1000/2000は以下の指令に準拠しています。

- EMC指令2014/30/EU
- 低電圧指令2014/35/EU
- 無線機器指令2014/53/EU

EU適合宣言書および準拠証明書の全文は、イルミナウェブサイトのjp.support.illumina.com/certificates.htmlから入手できます。

特定有害物質使用制限指令 (RoHS)



このラベルは、本装置が廃棄物に関する電気電子機器廃棄物（WEEE）指令に準拠していることを示します。



お使いの装置のリサイクルについて詳しくは、jp.support.illumina.com/weee-recycling.html にアクセスしてください。

人体への無線周波の曝露

本装置は、Title 47 CFR § 1.1310 Table 1に定められている、一般向けの最大許容線量（MPE）限界値に準拠しています。

本装置は、職業的または専門的環境において無線自動識別（RFID）に使用される、0 Hzから10 GHzの周波数範囲内で作動する装置の人電磁界暴露（EMF）限界値に準拠しています（EN 50364:2010 sections 4.0）。

RFIDのコンプライアンスについては、『RFID Reader Module Compliance Guide』（文書番号：1000000002699）を参照してください。

規制とコンプライアンスに関するステートメント

FCCコンプライアンス

本装置はFCC（連邦通信委員会）規則のパート15に準拠しています。操作については次の2つの条件があります。

1. 本装置は、有害な干渉を引き起こさない。
2. 本装置は、望ましくない操作を引き起こす可能性のある干渉を含め、受信したいずれの干渉も受け入れることができる。

! | コンプライアンスに責任を負う当事者によって明確に承認されていない本装置に対する変更または改造は、本装置を操作するユーザー権限を無効にする場合があります。

i | 本装置は、FCC規則のパート15に規定されたクラスAのデジタル機器の限界値に適合することが試験され、確認されています。これらの限界値は、本装置を商業的環境で操作する際の有害な干渉に対し、適切な保護を行うために設計されています。

本装置は、無周波数エネルギーを発生、使用、放射することがあり、設置マニュアルに従って設置および使用しない場合、無線通信を妨害する恐れがあります。住宅地域での本装置の操作は、有害な干渉を発生させる可能性があり、ユーザーはユーザー自身の費用でこの干渉を是正する必要が生じることがあります。

FCCシールドケーブル

シールドケーブルを本装置に使用し、確実にクラスAのFCC限界値に準拠する必要があります。

ICコンプライアンス

このクラスAのデジタル機器は、Canadian Interference-Causing Equipment Regulationsのすべての要件を満たしています。

本装置は、カナダ産業省のライセンス適用免除RSS標準に適合しています。操作については次の2つの条件があります。

1. 本装置は、干渉を引き起こさない。
2. 本装置は、装置の望ましくない操作を引き起こす可能性のある干渉を含め、いずれの干渉も受け入れることができる。

EMCに関する考慮事項

本装置はCISPR 11のクラスA基準に準拠して設計され検査されました。国内環境では電波障害を引き起こす場合があります。電波障害が生じる場合、軽減策を講じる必要がある場合があります。

本装置は、正常動作を妨げる恐れのある、強い電磁放射源の近くで使用しないでください。

本装置は管理された電磁環境で使用する必要があり、承認された無停電電源装置（UPS）に接続することが推奨されます。

韓国でのコンプライアンス

해당 무선 설비는 운용 중 전파 혼신 가능성이 있음.

A급 기기(업무용 방송통신기자재)

이 기기는 업무용(A급) 전자파적합기기로서 판매자 또는 사용자는 이 점을 주의하시기 바라며, 가정 외의 지역에서 사용하는 것을 목적으로 합니다.

アラブ首長国連邦でのコンプライアンス

- TRA登録番号 : ER0117765/13
- 販売業者番号 : DA0075306/11

タイでのコンプライアンス

本電気通信装置は、NTC/NBTCの技術要件に準拠しています。

中国でのコンプライアンス

警告

此为A級产品，在生活环境，该产品可能会造成无线电干扰。在这种情况下，可能需要用户对干扰采取切实可行的措施。

仅适用于非热带气候条件下安全使用

仅适用于海拔2000m一下地区安全使用

台灣でのコンプライアンス

警告使用者

這是甲類的資訊產品

在居住的環境中使用時

可能會造成射頻干擾，在這種情況下

使用者會被要求採取某些適當的對策

統合解析サーバーに関する台湾でのコンプライアンス

本產品為國內裝置使用時，其電源僅限使用架構電源模組所提供之直流輸入，不得使用交流電源及附加其他電源轉換裝置提供電源者，其電源輸入電壓及電流請依說明書規定使用

日本でのコンプライアンス

この装置は、クラスA機器です。この装置を住宅環境で使用すると電波妨害を引き起こすことがあります。
この場合には使用者が適切な対策を講ずるよう要求されることがあります。VCCI - A

サイトの準備

このセクションでは、NextSeq 1000/2000システムの設置と操作を目的としてサイトを準備するための仕様とガイドラインを示します。

データの保存やデータの使用例については、[製品セキュリティポータル](#)を参照してください。

配送と設置

認可を受けたサービスプロバイダーが、システムの配送、コンポーネントの梱包開封を行い、ラボベンチに装置を設置します。配送前に、ラボスペースとベンチを準備してください。

! | 認可を受けた担当者のみが装置の梱包開封、設置または移動を行うことができます。装置の取り扱いミスは、光学アライメントに影響を与えたり、装置のコンポーネントに損傷を与えたことがあります。

イルミナの担当者が、装置の設置および準備を行います。装置をデータ管理システムまたはリモートネットワーク接続に接続する場合は、設置日前に、データストレージのパスが選択されていることを確認してください。イルミナの担当者が、設置時にデータ転送プロセスをテストすることができます。

装置の設置、メンテナンスおよびサービスを利用する場合には、装置のUSBポートにアクセスできる必要があります。

! | イルミナの担当者が装置を設置および準備した後は、装置を移設しないでください。装置を不適切に移動させると光学アライメントに影響を与え、データの整合性が損なわれることがあります。装置の移設が必要な場合は、イルミナの担当者にお問い合わせください。

木枠梱包の寸法と内容

NextSeq 1000/2000システムは、1つの木枠に入れて出荷されます。以下の寸法表で、出荷用木枠を運び入れるために最低限必要なドア幅を確認してください。

測定	木枠梱包の寸法
高さ	118 cm (46.5インチ)
幅	92 cm (36.2インチ)
奥行き	120 cm (47.2インチ)
重量	232 kg (511.5ポンド)

木枠には、装置と以下のコンポーネントが入っています。

- 電源コード : 243.8 cm (8フィート)
- キーボードとマウスが入ったAccessories kit (付属品キット)

ラボ要件

以下の仕様と要件に従ってラボスペースを準備してください。

装置の寸法

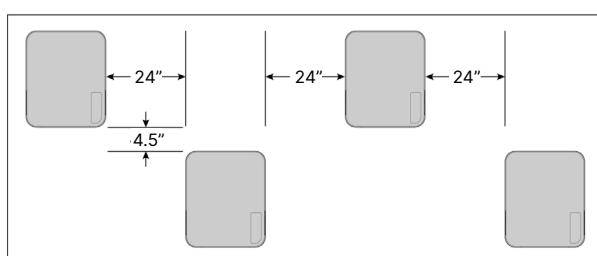


測定	装置の寸法
高さ	60 cm (23.6インチ)
幅	55 cm (21.7インチ)
奥行き	65 cm (25.6インチ)
重量	141 kg (310.9ポンド)

設置要件

装置は、適正な換気ができ、電源コンセントにアクセスができ、装置のサービス時にアクセスができるよう設置します。

- 使用者がコンセントから電源コードをすばやく外せるように装置を設置してください。
- 複数台の装置を背中合わせで配置する場合は、各側面に少なくとも61 cm (24インチ) のスペースが必要です。



- 熱い排気が装置の吸気口に吹き込まないようにしてください。

- 装置の周囲に障害物を置かず、装置に四方からアクセスできるようにしてください。これにより、空気が適切に循環し、メンテナンスの際に装置にアクセスできます。
- 装置の前面にキーボード用の十分なスペースを設けてください。
- 装置の上に棚がある場合は、奥行きが30.5 cm (12インチ) 以下であることを確認してください。

アクセス	必要なスペース
側面	装置の各側面には少なくとも50.8 cm (20インチ) のスペースが必要です。
背面	装置の背面には少なくとも11.4 cm (4.5インチ) のスペースが必要です。
上面	装置の上面には少なくとも61 cm (24インチ) のスペースが必要です。

! | 装置を不適切に移動させると光学アライメントに影響を与え、データの整合性が損なわれることがあります。装置の移設が必要な場合は、イルミナの担当者にお問い合わせください。

ラボベンチガイドライン

装置には精密光学部品が内蔵されています。振動の発生源から離して、丈夫なベンチに設置してください。移動式のベンチに装置を設置しないでください。下記の測定値には、ケーブルの取り回しに必要なスペースは含まれていません。

幅	高さ	奥行き	キャスター
122 cm (48インチ)	91.4 cm (36インチ)	76.2 cm (30インチ)	オプション

北米のカスタマー向けに、イルミナでは次のラボベンチを推奨しています：Bench-Tek Solutions、部品番号：BT40CR-3048BS-PS。

振動のガイドライン

ラボフロアの振動レベルを、 $\frac{1}{3}$ オクターブバンド周波数8~80 Hz（またはそれ以下）のVC-A基準である50 $\mu\text{m}/\text{s}$ 以下に維持してください。このレベルはラボでは一般的なものです。8~80 Hzの $\frac{1}{3}$ オクターブバンド周波数に対して、ISO Operating Room (ベースライン) 基準である100 $\mu\text{m}/\text{s}$ を超えないようにしてください。

シーケンスラン中には以下のガイドラインを用いて、振動を最低限に抑え、最適な性能を確保してください。

- 装置は丈夫なラボベンチに設置してください。
- 装置の上にキーボード、使用済みの消耗品、あるいはその他のものを置かないでください。
- ISO Operating Room基準を超える振動源から離して装置を設置してください。以下に例を示します。
 - ラボ内のモーター、ポンプ、振動試験装置、落下試験装置、および大量の気流
 - HVACファン、コントローラー、ヘリポートの真下または真上のフロア
 - 装置と同じフロアでの建築または修復工事
 - 多くの人が行き交う場所

- 落下物や重量のある機器の移動などの振動源は、本装置から少なくとも100 cm (39.4インチ) 遠ざけてください。
- 本装置の操作にはタッチスクリーン、キーボード、およびマウスのみを使用してください。操作中に装置の表面に直接衝撃を与えないでください。

PCR手順に対するラボのセットアップ

いくつかのライブラリー調製法では、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) プロセスが必要です。

PCR産物のコンタミネーションを防ぐために、ラボでの作業を開始する前に、専用のエリアとラボ手順を確立してください。PCR産物は試薬、装置およびサンプルをコンタミネーションする場合があり、通常のオペレーションを遅らせ不正確な結果をもたらします。

クロスコンタミネーションを避けるために、以下のガイドラインに従ってください。

- PCR前のプロセスのためにプレPCRエリアを設置してください。
- PCR産物の処理を行うためにポストPCRエリアを設置してください。
- プレPCRとポストPCRの器具を洗浄する際は同じ流し台を使用しないでください。
- プレPCRとポストPCRの専用エリアで同じ水精製システムを使用しないでください。
- プレPCRプロトコールで使用する消耗品は、プレPCRエリア内に保管してください。必要に応じて、それらの消耗品をポストPCRエリアに移してください。
- プレPCRとポストPCRのプロセス間で機器と消耗品を共有しないでください。それぞれの場所で、機器と消耗品のセットを分けて専用にしてください。
- それぞれの場所で使用する消耗品の専用保管場所を設定してください。保管温度要件と寸法については、[43ページの「消耗品および機器」](#)を参照してください。

電源要件

電力仕様

表1 装置の電力仕様

タイプ	仕様
定格電圧	50/60 Hzで100~240ボルトAC
電源定格	750ワット、最大値

表2 サーバーの電力仕様

タイプ	仕様
定格電圧	24ボルトDC、23A
電源定格	552ワット、最大値

コンセント

設備は以下の機器で配線する必要があります。

- **100~120ボルトACの場合**：接地極付きの15 Aコンセントで、適切な電圧と接地されている専用電源が必要です。北米および日本：コンセント：NEMA 5-15
- **220~240ボルトACの場合**：接地極付きの10 Aコンセントで、適切な電圧と接地されている専用電源が必要です。電圧が10%を超えて変動する場合、交流安定化電源が必要となります。

保護接地



装置には筐体から保護接地を行うための接続部があります。電源コードの安全接地により保護接地を安全基準点にします。本装置を使用する際には、電源コードの保護接地接続が良好な作動状態であることを確認してください。

電源コード

装置には国際規格のIEC 60320 C14に準拠した電源コード差込口が付いており、地域仕様の電源コードが付属しています。

AC電源からコードを抜いた時以外は常に高電圧が装置に供給されています。

地域規格に準拠した同等の電源コード差込口または電源コード入手するには、Interpower Corporationなどの第三者サプライヤーにお問い合わせください。

! | 装置を電源に接続するために延長コードを絶対に使用しないでください。

ヒューズ

本装置にはユーザーが交換できるヒューズはありません。

無停電電源装置

無停電電源装置（UPS）をユーザーが用意して使用することを強く推奨します。装置がUPSに接続しているかどうかにかかわらず、停電によって影響を受けたランに対しイルミナでは責任を負いかねます。標準的な発電機の電源は完全には無停電ではありません。電源が再開するまでに、通常は短期間、停電が生じます。

以下の表では推奨のUPS仕様が地域ごとに示されています。

仕様	APC Smart UPS 1500 VA LCD 100 V 部品番号： SMT1500J (日本)	APC Smart UPS 1500 VA LCD 120 V 部品番号： SMT1500C (北米)	APC Smart UPS 1500 VA LCD 230 V 部品番 号：SMT1500IC (その 他の国)
最大出力	980 W / 1,200 VA	1,000 W / 1,440 VA	1,000 W / 1,500 VA
入力電圧 (公称)	100 VAC	120 VAC	230 VAC
入力周波数	50/60 Hz	50/60 Hz	50/60 Hz
入力接続	NEMA 5-15P	NEMA 5-15P	IEC-320 C14 Schuko CEE7/EU1-16P British BS1363A
寸法 (高さ×幅× 奥行き)	22.5 cm × 17.2 cm × 43.9 cm (8.9インチ × 6.8イ ンチ × 17.3インチ)	21.9 cm × 17.1 cm × 43.9 cm (8.6インチ × 6.7イ ンチ × 17.3インチ)	21.9 cm × 17.1 cm × 43.9 cm (8.6インチ × 6.7インチ × 17.3インチ)
重量	26 kg (57.3ポンド)	24.6 kg (54.2ポンド)	24.1 kg (9ポンド)
標準実行時間 (500ワット時)	23分	23分	23分

該当地域以外で地域規格に準拠した同等のUPSを入手するにはInterpower Corporation (www.interpower.com) などの第三者サプライヤーにお問い合わせください。

環境的制約

要素	仕様
温度	ラボの温度は15°C～30°Cに維持してください。この温度は、 本装置の動作温度です。ランの間は、室温が±2°Cの範囲を超えて変動しないようにしてください。 演算サーバーの上限温度は40°Cです。
湿度	結露しないように20～80%の相対湿度を維持してください。
高度	本装置は標高2,000メートル (6,500フィート) 未満で設置してください。

要素	仕様
空気質	本装置は、空气中浮遊微粒子の清浄度がISO 14644-1クラス9（通常の室内またはラボ内）またはそれ以上の基準に準拠した室内環境で使用してください。装置を粉塵源に近づけないでください。
換気	本装置の熱出力仕様に基づく換気に関する要件については、貴施設の担当部署にお問い合わせください。
振動	ラボのフロアの連続的な振動を、ISO Officeレベルまで制限してください。シーケンスランの間は、ISO Operating Roomの制限値を超えないでください。断続的な衝撃を発生させるものや障害の原因となるものは装置から離してください。

熱出力

測定電力	発熱量
750ワット	最大2,569 BTU/h 平均1,700 BTU/h

騒音出力

騒音出力 (dB)	装置からの距離
≤ 70 dB	1メートル (3.3フィート)

≤ 70 dBは、約1メートル (3.3フィート) の距離での普通の会話レベル内です。

ネットワークの考慮事項

NextSeq 1000/2000システムは、ネットワークに接続して使用するように設計されています。NextSeq 1000/2000の制御コンピューターではLinuxが実行され、SELinuxが有効化されています。NextSeq 1000/2000では、暗号化を有効にできません。

Manualモードでのラン実行には、ランデータをネットワーク上のストレージロケーションに転送するためのネットワーク接続が必要です。ランデータは外部ドライブまたはネットワークドライブに保存することを推奨します。NextSeq 1000/2000システムに搭載されたローカルハードドライブは、自動転送の前にデータを一時的に保存することを目的とします。

以下の操作を実行するには、インターネット接続が必要となります。

- Illumina Proactiveサポートへの装置性能データのアップロード（『Illumina Proactive Technical Note』（文書番号：1000000052503）を参照）
- （オプション）イルミナのテクニカルサポートによるリモートアシスタンス

セキュリティとネットワーク

装置のセキュリティを確保するため、[製品セキュリティポータル](#)を確認することを推奨します。このベストプラクティスには、例えば、ファイアウォールの有効化や適切なアカウント設定の使用が含まれています。

ネットワーク接続

以下の推奨事項に従ってネットワーク接続を設定および構成してください。

- 装置とローカルデータ管理システム間には、専用の1ギガビット接続を使用してください。この接続は直接接続することも、管理されたネットワークスイッチを使用して接続することもできます。
- 接続に必要な帯域幅は次のとおりです。
 - ローカルストレージ用として、装置1台あたり200 Mb/sのイントラネット帯域幅。
 - NextSeq 1000/2000 Control SoftwareおよびDRAGEN Workflows（約15 GB）のダウンロード用として、装置1台あたり最低5 Mb/sのインターネット帯域幅。ダウンロードは6時間後にタイムアウトします。1時間以内にダウンロードするには、装置1台あたり35 Mb/sの帯域幅が必要になります。
 - BaseSpace Sequence Hubクラウドストレージ用として、装置1台あたり10 Mb/sのインターネット帯域幅（Illumina Proactiveサポートを含む）。
 - ランモニタリングまたはIllumina Proactiveサポート専用として、システムあたり5 Mb/sのインターネット帯域幅。
- スイッチを管理する必要があります。
- スイッチなどのネットワーク機器には、1 Gb/s以上の容量が必要です。
- 各ネットワークスイッチ上の負荷の総容量を計算してください。接続されている装置および補助機器（プリンターなど）の数も、容量に影響を与えることがあります。
- 可能であれば、シーケンス用のトラフィックを他のネットワークから分離してください。
- ネットワークケーブルはCAT-6ケーブルを使用することを推奨します（最低要件はCAT-5eです）。設置を始める前に、必要なケーブルが揃っていることを確認してください。

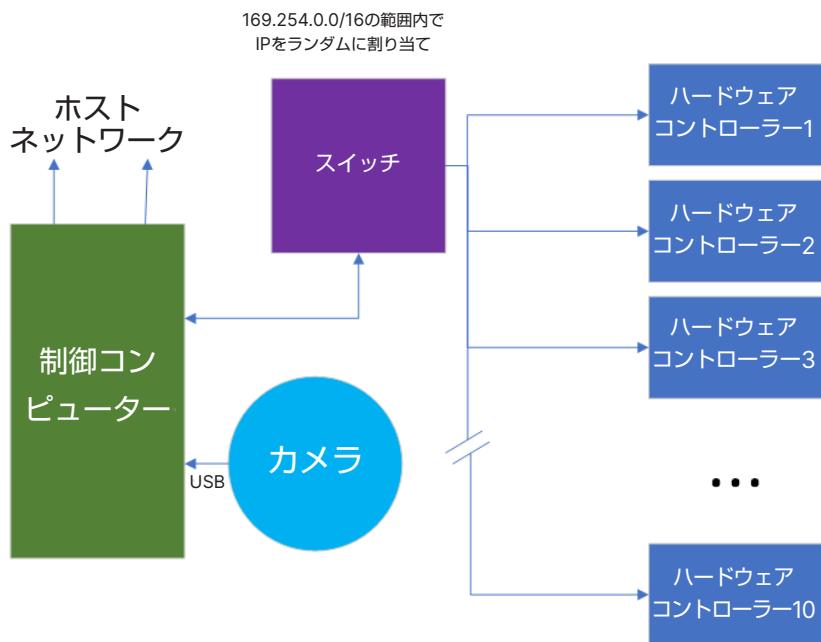
ネットワークサポート

イルミナでは、ネットワーク接続の設定やテクニカルサポートを行っていません。

以下のような要素を考慮して、ネットワークアーキテクチャにイルミナのシステムとの適合性のリスクがないか確認してください。

- **IPアドレス競合の可能性**：NextSeq 1000/2000システムには、169.254.0.0/16の範囲内でランダムな内部IPアドレスが割り当てられます。IPアドレスが競合した場合、システム障害が起こる可能性があります。NextSeq 1000/2000 Control Software v1.2.0以降は、「Docker」という仮想ネットワークインターフェースを備えており、そのデフォルトIPアドレスは172.17.0.1/16です。
- **IPの割り当て**：NextSeq 1000/2000システムでは、DHCPまたはStatic IPの割り当てがサポートされています。

制御コンピューターの接続



以下の表に制御コンピューターのネットワークポートおよびドメインを示します。ネットワーク構築の際に
は、これらの表を参照してください。

内部接続

接続	値	目的
OSの指定	enp5s0	内部コンポーネント間の通信（設置後は設定または変更しないでください）
ドメイン	localhost:*	ローカルホスト対ローカルホストの通信用の全ポート（プロセス間通信に必要）
ポート	8081	Real-Time Analysis
	8080	NextSeq 1000/2000 Control Software
	29644	Universal Copy Service (UCS)

アウトバウンド接続

接続	値	目的
OSの指定	enp6s0	インターネット用の優先イーサネットポート（装置後部から見たときの右側のポート）
	enp2s0	NASやその他のネットワークストレージなど、任意で使用する二次ネットワーク接続用の優先イーサネットポート（装置後部から見たときの左側のポート）
ポート	443	BaseSpace Sequence HubまたはIllumina Proactiveの設定

地域プラットフォームドメイン

Universal Copy ServiceからBaseSpace Sequence HubおよびIllumina Proactiveへのアクセスを提供する地域プラットフォームドメインについては、『[Illumina Control Computer Security and Networking](#)』を参照してください。

オペレーティングシステムの設定

イルミナの装置は出荷前に仕様内で作動することがテストされ確認されています。装置インストール後の設定変更は、性能またはセキュリティのリスクをもたらす可能性があります。

以下の設定推奨事項を実施することで、オペレーティングシステムの性能およびセキュリティのリスクを軽減できます。

- パスワードは10文字以上のものを作成して、ローカルのIDポリシーを補足ガイダンスとして使用してください。**パスワードを記録しておいてください。**
 - イルミナでは、お客様のログイン認証情報を保管していません。パスワードはシステムのrootアカウントからリセットできます。または、シングルユーザー mode で起動する方法でもリセットできます。
 - 別の方法として、イルミナの担当者が装置を工場出荷時の設定に戻すこともできます。これを行うと、システムからすべてのデータが削除され、修理またはメンテナンスに要する時間が長くなる場合があります。
- 事前設定したユーザーへ既存の権限を与えて維持してください。必要に応じて事前設定したユーザーを使用不可にしてください。
- ハードウェアコンポーネントと通信するために使用される内部IPアドレスは、システムによってランダムに割り当てられます。これらのIPアドレスが変更されるか、IPアドレスの割り当て方法が変更された場合、ハードウェアエラーが発生する可能性があります（機能が完全に失われる場合もあります）。
- 装置の制御コンピューターはイルミナシーケンスシステムの操作用に設計されています。ウェブの閲覧、電子メールのチェック、文書の閲覧、その他のシーケンスとは無関係の目的での使用は、品質やセキュリティの問題につながる可能性があります。

サービス

NextSeq 1000/2000 Control SoftwareはUniversal Copy Serviceを使用します。デフォルト設定では、Universal Copy Serviceによって使用される認証情報は、NextSeq 1000/2000システムへのログインに使用されるものと同一です。

ネットワークドライブのマウント

装置のドライブまたはフォルダーを共有しないでください。本装置は、サーバーまたは長期保管場所として使用することは想定されていません。

ネットワークドライブを装置に永続的にマウントするための方法としては、Server Message Block (SMB)、Common Internet File System (CIFS)、およびNetwork File System (NFS) のみがテストされ、サポートされています。

施設内に設置された専用の機器を使用することを推奨します。施設外の機器（クラウドまたはコロケーション）をマウントすることは避けてください。イルミナでは以下の使用を推奨しておらず、サポートしていません。

- ラン出力先としてクラウドエンドポイントを使用すること
- シンルートサーバーを介した分散ファイルシステム (DFS)
- ファイルメタデータサービスを使用し、遅延読み取りまたは書き込み操作をサポートするストレージシステム

ランまたは解析の実行中にランファイルが移動またはスキャンされた場合、データが破損するか、予期しない問題が生じる可能性があります。同様に、ランまたは解析の実行中にファイルハンドルを参照したり、操作したりしないでください。

正しく認識されたUNCパスのみが、装置からネットワークストレージをマウントするために使用できます。隠しファイルパスは使用しないでください。

オペレーティングシステムの更新

グラフィカルユーザーインターフェースを使用してNextSeq 1000/2000のOS更新プログラムをインストールするには、[イルミナ製品セキュリティポータル](#)を参照してください。これらの手順にはネットワーク接続が必要です。追加のサポートが必要な場合は、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。

システム構成

このセクションでは、ソフトウェア設定の説明など、システムのセットアップ手順について説明します。

i | 装置でGoogle Chromiumを使用すると、ログインキーリングのロック解除を求めるプロンプトが表示されますが、このプロンプトは無視してキャンセルしても問題ありません。

ユーザーアカウント要件

Linuxオペレーティングシステムには、以下のアカウントが用意されています。

- root (スーパー管理者)
- ilmnadmin (管理者)
- ilmnuser (ユーザー)

管理者アカウントは、NextSeq 1000/2000 Control Softwareのアップデートなどのシステムアップデートを適用する場合、またはIT担当者が永続的ネットワークドライブをマウントする場合に使用することのみを目的とします。

シーケンスなど、その他すべての機能はユーザーアカウントから実行してください。

パスワード要件

装置の設置の完了後に、イルミナのフィールドサービスエンジニアが3つすべてのアカウントのパスワード変更を開始します。180日ごとにパスワードの更新を求めるメッセージが表示されるので、その都度各パスワードを変更してください。

表 3 デフォルト設定でのパスワードポリシー

ポリシー	設定
パスワード履歴の管理	5個のパスワードを記憶
ロックアウトのしきい値	10回の無効なログイン試行
最短パスワード長	10文字
文字の種類の最小構成	数字、大文字、小文字、記号の中から3種類を使用
繰り返し可能な最大文字数	3文字
パスワードの複雑性要件の遵守	無効
可逆的な暗号化を用いたパスワードの保管	無効

新規ユーザーの追加 (CentOS 7)

1. ilmnadminでログインします。
2. 電源ボタンを選択し、ilmnadmin ドロップダウンリストを開きます。
3. **[Account Settings]** を選択します。
4. **[Unlock]** を選択し、ilmnadminのパスワードを入力します。
5. **[Add User]** を選択します。
6. **[Standard]** アカウントタイプを選択し、新規ユーザーのユーザー名を入力します。
7. **[Set password now]** を選択し、パスワードを入力します。
8. **[Add]** を選択します。
新規ユーザーがユーザーリストに追加されます。
9. 以下の手順に従って、新規ユーザーにNextSeq 1000/2000 Control Softwareに対するアクセス権を付与します。
 - a. ターミナルを開きます。
 - b. 次のように入力します。
`$ sudo usermod -a -G ilmnusers <new user name>`
 - c. プロンプトが表示された場合は、ilmnadminのパスワードを入力します。
10. 以下の手順に従って、ユーザーのアクセス許可が正常に設定されたことを確認します。
 - a. 新規ユーザーのアカウントでログインします。
 - b. NextSeq 1000/2000 Control Softwareに移動します。
 - c. Control Softwareのメニューから **[Settings]** を選択します。
 - d. **[Default Output Folder]** で、出力フォルダーのパスを選択して保存できることを確認します。エラーが発生せずに出力フォルダーのパスを選択して保存できた場合、アクセス許可は正常に設定されています。

新規ユーザーの追加 (Oracle Linux 9)

1. ilmnadminでログインします。
2. 電源ボタンを選択し、**[Settings]** を選択します。
3. **[Users]** を選択します。
4. **[Unlock]** を選択し、ilmnadminのパスワードを入力します。
5. **[Add User]** を選択します。
6. **[Standard]** アカウントタイプを選択し、新規ユーザーのユーザー名を入力します。
7. **[Set password now]** を選択し、パスワードを入力します。
8. **[Add]** を選択します。
新規ユーザーがユーザーリストに追加されます。
9. 以下の手順に従って、新規ユーザーにNextSeq 1000/2000 Control Softwareに対するアクセス権を付与します。
 - a. ターミナルを開きます。

b. 次のように入力します。

```
$ sudo usermod -a -G ilmnusers <new user name>
```

c. プロンプトが表示された場合は、ilmnadminのパスワードを入力します。

10. 以下の手順に従って、ユーザーのアクセス許可が正常に設定されたことを確認します。

a. 新規ユーザーのアカウントでログインします。

b. NextSeq 1000/2000 Control Softwareに移動します。

c. Control Softwareのメニューから **[Settings]** を選択します。

d. **[Default Output Folder]** で、出力フォルダーのパスを選択して保存できることを確認します。エラーが発生せずに出力フォルダーのパスを選択して保存できた場合、アクセス許可は正常に設定されています。

パスワードのリセット

このセクションでは、ilmnuser、ilmnadmin、およびrootのパスワードをリセットする方法について説明します。パスワードの回復はできません。間違ったパスワードでログインに10回失敗した場合、パスワードをリセットしてもアカウントのロックアウトは回避できません。その場合、パスワードのリセットやログインの試行が可能になるまで、10分ほど待つ必要があります。

ilmnuserのパスワードのリセット

ilmnadminまたはrootのパスワードを知っているユーザーは、ilmnuserのパスワードをリセットできます。

1. ilmnadminでログインします。
2. ターミナルを開きます。
3. 「`sudo passwd ilmnuser`」と入力します。
4. プロンプトに対してilmnadminのパスワードを入力します。
5. プロンプトに対してilmnuserの新しいパスワードを入力します。
6. パスワード確認のため、プロンプトに対してilmnuserの新しいパスワードをもう一度入力します。

ilmnadminのパスワードのリセット

rootのパスワードを知っているユーザーは、ilmnadminのパスワードをリセットできます。

1. rootでログインします。
2. ターミナルを開きます。
3. ilmadminのパスワードを変更する場合は「`passwd ilmnadmin`」と入力し、ilmnuserのパスワードを変更する場合は「`passwd ilmnuser`」と入力します。
4. プロンプトに対して新しいパスワードを入力します。
5. パスワード確認のため、プロンプトに対して新しいパスワードをもう一度入力します。

rootのパスワードのリセット

rootのパスワードをリセットするには、次のいずれかの方法を使用します。

- OSイメージを最後に取得した時点のパスワードを覚えている場合は、保存されているイメージに戻します。
- パスワードを覚えていない場合は、イルミナのテクニカルサポートに連絡してください。

BaseSpace Sequence HubおよびProactiveサポートの設定

以下の手順に従って、BaseSpace Sequence HubおよびProactiveサポートをシステムに設定します。BaseSpace Sequence Hubのアカウントをセットアップするには、『[BaseSpace Sequence Hub Online Help](#)』を参照してください。

1. Control Softwareのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. [BaseSpace Sequence Hub and Proactive Support Settings] で、以下のいずれかのオプションを選択します。

オプション	説明および必要事項
Proactive Support Only*	迅速なトラブルシューティングが行えるように、装置性能データがイルミナに送信されます。 インターネット接続が必要です。
Proactive and Run Monitoring	リモートランモニタリングのために、InterOpファイルとログファイルをBaseSpace Sequence Hubに送信します。このオプションがデフォルト設定です。 BaseSpace Sequence Hubアカウントとインターネット接続が必要になります。
Proactive, Run Monitoring and Storage	リモートモニタリングと解析のために、InterOpファイル、ログファイル、ランデータをBaseSpace Sequence Hubに送信します。 BaseSpace Sequence Hubアカウント、インターネット接続、サンプルシートが必要です。
None	ランをBaseSpace Sequence Hubアカウントから切り離し、Illumina Proactiveサポートに装置性能データを送信しません。

* コントロールソフトウェアのバージョンによっては、上記のソフトウェインターフェースの設定名は本リソースに示された名前と異なる場合があります。

[None] 以外のオプションを選択すると、Proactive サポートが有効になります。この無料サービスを有効にすると、ユーザーが MyIllumina カスタマーダッシュボードで性能データを確認できるほか、イルミナのサービスチームが問題のトラブルシューティングを迅速に行えるようになります。

i | デフォルト設定では [Proactive and Run Monitoring] がオンになっています。このサービスを利用しない場合は、 [None] を選択します。

3. ステップ2で [None] を選択した場合は、 **[Save]** を選択して終了します。そうでない場合は、ステップ6に進みます。
 4. [Hosting Location] リストから、データのアップロード先となるBaseSpace Sequence Hubサーバーの場所を選択します。
- 装置が設置されている地域または最も近い地域にあるHosting Locationを使用してください。

5. Enterpriseサブスクリプションに加入している場合は、BaseSpace Sequence Hubアカウントに使用するドメイン名（URL）を入力します。
以下に例を示します。https://yourlab.basespace.illumina.com
6. [Save] を選択します。

デフォルト出力フォルダーの場所の指定

このセクションの手順に従って、デフォルト出力フォルダーの場所を選択します。各ランの出力フォルダーは、ランセットアップ中に変更できます。この出力フォルダーには、CBCLファイル¹とその他のランデータが保存されます。

出力フォルダーは、BaseSpace Sequence Hubの設定で [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合を除き、必須です。デフォルト出力フォルダーには、外部ドライブまたはネットワークドライブを使用することを推奨します。装置上のフォルダーを出力フォルダーとして使用すると、シーケンスランに悪影響が及ぶ可能性があります。

外部ドライブを出力フォルダーに指定

以下の手順に従って、デフォルト出力フォルダーとして外部ポータブルドライブを選択します。NTFS形式またはGPT/EXTA形式にフォーマットされた電源内蔵型のドライブを使用することを推奨します。

- i** | ランデータを外部USBドライブに転送する場合は、USBドライブを取り外す前にすべての転送が完了していることを確認してください。
1. 装置の側面または背面にあるUSB 3.0ポートを使用して、外部ポータブルドライブを接続します。外部ポータブルドライブへの書き込みが許可されていることを確認してください。読み取り専用に設定されているドライブにはデータを保存できません。
 2. 外部ポータブルドライブにフォルダーを作成します。このフォルダーが、デフォルト出力フォルダーの場所になります。
この場所を外部ポータブルドライブとして装置に認識させるためには、少なくとも2階層分ネストしたフォルダーが必要です。
 3. Control Softwareのメニューから [Settings] を選択します。
 4. [Default Output Folder] で既存のフォルダーのパスを選択し、外部ポータブルドライブの新しいフォルダーに変更します。
 5. (オプション) [Run Mode] で [Online Run Setup] を選択している場合、[Hosting Location] ドロップダウンメニューからオプションを選択します。
 6. [Save] を選択します。

ネットワークドライブをデフォルトの出力フォルダーに指定

以下の手順に従って、永続的ネットワークドライブをマウントし、デフォルト出力フォルダーの場所として指定します。ネットワークドライブをNextSeq 1000/2000に永続的にマウントする方法としてサポートされているのは、Server Message Block (SMB) /Common Internet File Systems (CIFS) とNetwork File System (NFS) のみです。

¹各シーケンスサイクルのクラスターごとに、ベースコールおよび関連するクオリティスコアが含まれます。

SMB/CIFSのマウント手順

1. NextSeq 1000/2000 Control Softwareが開いている場合は、 [Minimize Application] を選択します。
2. ilmnadminでログインします。
3. [Applications] を選択します。
4. [Favorites] の下の [Terminal] を選択します。
5. 「sudo touch /root/.smbcreds」と入力し、 [Enter] を選択します。
6. パスワードの入力を求められたら、 ilmnadminのパスワードを入力します。
sudoコマンドを使用するたびに、 ilmnadminのパスワードの入力が必要になります。
7. 「sudo gedit /root/.smbcreds」と入力して [Enter] を選択し、 .smbcredsという名前のテキストファイルを開きます。
8. .smbcredsテキストファイルが開いたら、 ネットワークログイン認証情報を次の形式で入力します。


```
username=<user name>
password=<password>
domain=<domain_name>
```

ユーザー名、 パスワード、 およびドメインの認証情報に括弧は含めないでください。 ドメインの認証情報が必要となるのは、 リモートアカウントがドメインの一部になっている場合のみです。
9. [Save] を選択して、 ファイルを閉じます。
10. ターミナルで「sudo chmod 400 /root/.smbcreds」と入力して [Enter] を選択し、 .smbcreds テキストファイルへの読み取りアクセス権を付与します。
11. SMB/CIFSサーバーのサーバー名と共有名を特定します。
サーバー名と共有名にはスペースを使用できません。 次に例を示します。
サーバー名：192.168.500.100またはMyserver-myinstitute-03
共有名：/share1
12. 「sudo mkdir /mnt/<local name>」と入力し、 [Enter] を選択します。
<local name>はネットワークドライブ上の新しいディレクトリの名前で、 スペースを使用できます。
このディレクトリは装置から見えます。
13. 「sudo gedit /etc/fstab」と入力し、 [Enter] を選択します。
14. fstabファイルが開いたら、 ファイルの末尾に次の行を入力して [Enter] を選択します。


```
//<Server name>/<Share name> /mnt/<local name> cifs
credentials=/root/.smbcreds,uid=ilmnadmin,gid=ilmnusers,dir_mode=0775,file_
mode=0775,_netdev,x-systemd.automount,sec=ntlmssp 0 0
```

NextSeq 1000/2000 Control Software v1.5.0以降では、 /mnt/パスは必須です。
15. [Save] を選択して、 ファイルを閉じます。
16. ターミナルで「sudo mount -a -vvv」と入力し、 [Enter] を選択します。
これで、 ネットワークドライブが/mnt/<local name>としてマウントされます。
17. 正常にマウントされたかどうかを確認するため、「df | grep <local name>」と入力して [Enter] を選択します。 正常にマウントされていれば、 ファイル共有名が表示されます。

18. 「`sudo mkdir /mnt/<local name>/<output directory>`」と入力し、ローカルディレクトリ内にサブフォルダーを作成します。`<output directory>`が、デフォルト出力フォルダーの場所になります。この場所をマウントされたネットワークドライブとして装置に認識させるためには、少なくとも2階層分ネストしたフォルダーが必要です。
19. 装置を再起動します。[109ページの「装置の再起動」](#)を参照してください。
20. 永続的にマウントされたネットワークドライブをデフォルト出力フォルダーとして設定します。[31ページの「永続的ネットワークドライブをデフォルト出力フォルダーとして指定」](#)を参照してください。

NFSのマウント手順

1. NextSeq 1000/2000 Control Softwareが開いている場合は、**[Minimize Application]** を選択します。
2. ilmnadminでログインします。
3. NFSサーバーのサーバー名を特定します。
サーバー名にはスペースを使用できません。次に例を示します。
サーバー名：192.168.500.100またはMyserver-myinstitute-03
4. **[Applications]** を選択します。
5. **[Favorites]** の下の **[Terminal]** を選択します。
6. 「`sudo mkdir /mnt/<local name>`」と入力し、**[Enter]** を選択します。
`<local name>`はネットワークドライブ上の新しいディレクトリの名前です。
7. 「`sudo gedit /etc/fstab`」と入力し、**[Enter]** を選択します。
8. fstabファイルが開いたら、ファイルの末尾に次の行を入力して **[Enter]** を選択します。
Server name:/share /mnt/<local name> nfs x-systemd.automount,defaults 0 0
NextSeq 1000/2000 Control Software v1.5.0以降では、/mnt/パスは必須です。
9. **[Save]** を選択して、ファイルを閉じます。
10. ターミナルで「`sudo mount -a -vvv`」と入力し、**[Enter]** を選択します。
これで、ネットワークドライブが/mntディレクトリの`<local name>`フォルダーとしてマウントされます。
11. `<local name>`フォルダー内に`<sub folder>`を作成します。このサブフォルダーが、デフォルト出力フォルダーの場所になります。
この場所をマウントされたネットワークドライブとして装置に認識させるためには、少なくとも2階層分ネストしたフォルダーが必要です。
12. 装置を再起動します。[109ページの「装置の再起動」](#)を参照してください。
13. 永続的にマウントされたネットワークドライブをデフォルト出力フォルダーとして設定します。[31ページの「永続的ネットワークドライブをデフォルト出力フォルダーとして指定」](#)を参照してください。

永続的ネットワークドライブをデフォルト出力フォルダーとして指定

1. ilmnuserでログインします。
2. NextSeq 1000/2000 Control Softwareメニューから **[Settings]** を選択します。
3. **[Default Output Folder]** で、永続的にマウントされたネットワークドライブにある`/mnt/<local name>/<output directory>`を選択します。

4. (オプション) [Run Mode] で [**Online Run Setup**] を選択している場合、[Hosting Location] ドロップダウンメニューからオプションを選択します。
5. [Save] を選択します。

リファレンスゲノムのインポート

新しいリファレンスゲノムをインポートするには、管理者アカウントを使用する必要があります。適合するすべてのリファレンスゲノムの一覧については、[イルミナサポートサイト](#)のNextSeq 1000/2000のCompatible Productsのページを参照してください。

1. 以下のいずれかの方法でリファレンスゲノムを取得します。
 - [イルミナサポートサイト](#)にあるソフトウェアダウンロードページから目的のゲノムパッケージtar.gzファイルをダウンロードします。
 - Illumina Instruments BaseSpace Sequence Hubアプリ向けReference Builderを使用して、リファレンスゲノムを作成します。
2. Control Softwareのメニューを選択し、[Process Management] を選択します。
3. シーケンスランや装置上の二次解析が進行中でないことを確認します。
4. ilmnadminでログインします。
 - a. ilmnuserとしてログイン済みの場合、Control Softwareで [Control Software] メニューを選択します。[Exit Application] を選択してデスクトップにアクセスします。
 - b. 右上隅の電源ボタンアイコンを選択し、ilmnuserをログアウトします。
 - c. ログイン画面で、ilmnadminを選択し、パスワードを入力します。Control Softwareが自動的に起動します。
5. Control Softwareのメニューを選択し、[DRAGEN] を選択します。
6. [Genome] セクションで [View Installed Genomes] を選択し、現在インストールされているすべてのイルミナゲノムとカスタムゲノムのリストを表示します。
7. ウィンドウを閉じます。
8. [Import New Reference Genomes] で、[Choose] を選択します。
9. ポータブルドライブまたはマウントされたネットワークドライブにあるリファレンスゲノムファイル (*.tar.gz) の場所に移動し、[Open] を選択します。
10. [Import] を選択します。

ノイズベースラインファイルのインポート

体細胞モードのDRAGEN Enrichmentワークフローでは、最適な結果を実現し、シーケンスノイズや系統ノイズを除去するためにノイズベースラインファイルが必要です。[イルミナサポートサイト](#)から標準ノイズファイルをダウンロードするか、カスタムノイズベースラインファイルを作成してください。

ユーザーインターフェースを使用したベースラインファイルのインポート

ベースラインファイルをインポートした後に、DRAGEN Enrichmentワークフローを体細胞モードで使用してシーケンスランをセットアップできます。

1. [イルミナサポートサイト](#)から標準ベースラインファイルをダウンロードするか、DRAGENサーバーまたはDRAGEN Baseline Builderアプリからカスタムベースラインファイルをダウンロードします。
2. Control Softwareのメニューから **[Minimize Application]** を選択します。
3. ilmnadminでログインします。
4. **[Places]** を選択し、**[Computer]** を選択します。
5. **usr**をダブルクリックしてから、**local**をダブルクリックします。
6. **illumina**をダブルクリックしてから、**aux_files**をダブルクリックします。
7. ノイズベースラインファイルをaux_filesにドロップします。

ターミナルを使用したベースラインファイルのインポート

ベースラインファイルをインポートした後に、DRAGEN Enrichmentワークフローを体細胞モードで使用してシーケンスランをセットアップできます。

1. [イルミナサポートサイト](#)から標準ベースラインファイルをダウンロードするか、DRAGENサーバーまたはDRAGEN Baseline Builderアプリからカスタムベースラインファイルをダウンロードします。
2. Control Softwareのメニューから **[Minimize Application]** を選択します。
3. ilmnadminでログインします。
4. **[Applications]** を選択します。
5. **[Favorites]** の下の **[Terminal]** を選択します。
6. 次のコマンドを入力します。

```
cp [/path/to/baselinefile] /usr/local/illumina/aux_files
```

カスタムノイズベースラインファイルの生成

体細胞モードを使用する際に、カスタムノイズベースラインファイルを生成できます。ノイズベースラインファイルは、サンプルが由来する対象と一致しない正常サンプルを使用して作成します。推奨の正常サンプルの必要数は50です。

カスタムノイズベースラインファイルを生成するには、以下のいずれかの方法を使用します。

- DRAGEN Bio-IT Platformサーバーを使用します。手順については、『DRAGEN Bio-IT Platform Online Help』を参照してください。
- BaseSpace Sequence HubでDRAGEN Baseline Builderアプリを使用します。

CNVコーリング用のパネルオブノーマルズファイルのインポート

DRAGEN EnrichmentパイプラインでCNVコーリングを有効にしている場合は、パネルオブノーマルズファイルが必要です。CNVコーラーはリファレンスベースのノーマライゼーションアルゴリズムであり、外部から提供された追加の正常サンプルと照合することで、CNVイベントをコールするためのベースラインレベルを決定します。照合対象となるこれらの正常サンプルは、当該ケースサンプルに使用するのと同じライブラリー調製キットおよびシーケンスワークフローで取得される必要があります。サンプル特異的でないシステムレベルのバイアスは、アルゴリズムによって除去されます。

パネルオブノーマルズファイルは、独自に構築するか、イルミナから提供されたものを使用します（現時点では提供されているのはTruSight Hereditary Cancer Panelのみです）。

パネルオブノーマルズファイルの生成

DRAGEN Baseline Builder BaseSpaceアプリを使用します。このアプリは、FASTQ、BAM、またはCRAMを入力としてCNV形式のベースラインファイル (*.combined.counts.txt.gzファイル) を生成します。

ベースラインの構築には約50サンプルを使用することを推奨します。

ユーザーインターフェースを使用したパネルオブノーマルズファイルのインポート

1. [イルミナサポートサイト](#)から提供されているパネルオブノーマルズファイルをダウンロードするか、DRAGEN Baseline Builderアプリからカスタムのパネルオブノーマルズファイルをダウンロードします。
2. Control Softwareのメニューから **[Minimize Application]** を選択します。
3. ilmnadminでログインします。
4. **[Applications]** を選択し、**[Favorites]** を選択します。
5. **[+Other Locations]** を選択し、**[Computer]** を選択します。
6. **usr**をダブルクリックしてから、**local**をダブルクリックします。
7. **illumina**をダブルクリックしてから、**aux_files**をダブルクリックします。
8. パネルオブノーマルズファイル (*.combined.counts.txt.gzファイル) をaux_filesにドラッグします。

ターミナルを使用したパネルオブノーマルズファイルのインポート

1. [イルミナサポートサイト](#)から提供されているパネルオブノーマルズファイルをダウンロードするか、DRAGEN Baseline Builderアプリからカスタムのパネルオブノーマルズファイルをダウンロードします。
2. Control Softwareのメニューから **[Minimize Application]** を選択します。
3. ilmnadminでログインします。
4. **[Applications]** を選択します。
5. **[Favorites]** の下の **[Terminal]** を選択します。
6. 次のコマンドを入力します。

```
cp [/path/to/baselinefile] /usr/local/illumina/aux_file
```

ランモードの設定

ランモードはすべてのランに適用され、ランパラメーターが入力される場所およびデータの解析方法を規定します。

クラウドモードまたはハイブリッドモード

1. Control Softwareのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. [BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support] で **[Online Run Setup]** を選択します。
3. 以下の項目を適宜設定します。
 - a. **[Proactive and Run Monitoring]** または **[Proactive, Run Monitoring and Storage]** 。
 - b. **[Hosting Location]** のドロップダウンメニュー。
 - c. (オプション) **[Private Domain Name]** にプライベートドメイン名を入力します。
4. **[Save]** を選択します。

ローカルモードまたはスタンドアロンモード

1. Control Softwareのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. [BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support] で **[Local Run Setup]** を選択します。
3. 以下の項目を適宜設定します。
 - a. **[Proactive Support Only]** 、 **[Proactive and Run Monitoring]** 、 **[Proactive, Run Monitoring and Storage]** 、または **[None]** 。
 - i** | BaseSpace Sequence Hubでは、 **[Proactive, Run Monitoring and Storage]** を選択した場合のみリキューが許可されます。無効なサンプルシートがある場合、このオプションを選択すると、サンプルシートを修正してデマルチプレックス解析をリキューすることができます。装置上のリキュー機能については、[109ページの「ランのリキュー」](#)を参照してください。
 - b. **[Hosting Location]** のドロップダウンメニュー。
 - c. (オプション) **[Private Domain Name]** にプライベートドメイン名を入力します。
4. **[Save]** を選択します。

ローカルモードまたはスタンドアロンモードのサンプルシートに関する考慮事項

DRAGENを使用して解析するには、サンプルシートv2ファイル形式を使用する必要があります。サンプルシートv2ファイル形式は、DRAGENの機能を利用しないBaseSpace Sequence Hubアプリにも対応します。v2ファイル形式でのサンプルシートの作成については、Sample Sheet v2オンラインヘルプを参照してください。

装置のカスタマイズ

このセクションでは、装置をカスタマイズするための設定について説明します。

装置の命名

1. Control Softwareのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. **[Instrument Nickname]** を選択し、装置の名前を入力します。
入力した名前は各画面の上部に表示されます。
3. **[Save]** を選択します。

変性および希釈に関する設定

1. Control Softwareのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. ライブラリーを装置上で自動的に変性して希釈するかどうかを選択します。前回のランで選択したオプションが既定値に設定されます。
 - ライブラリーを装置上で自動的に変性して希釈するには、**[Denature and Dilute On Board]** チェックボックスを選択します。
 - ライブラリーをマニュアルで変性して希釈するには、**[Denature and Dilute On Board]** チェックボックスの選択を解除します。
ライブラリーをマニュアルで変性して希釈する手順については、72ページの「マニュアルでのスタンダードSBSの変性および希釈」を参照してください。

試薬の自動ページに関する設定

1. Control Softwareのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. ラン完了後の試薬の廃液処理を効率化するため、各ランの終了後に未使用の試薬を使用済み試薬コンパートメントに自動的にページするかどうかを選択します。
 - 自動的にページするには、**[Purge Reagent Cartridge]** チェックボックスを選択します。
 - 自動ページを省略するには、**[Purge Reagent Cartridge]** チェックボックスの選択を解除します（これがデフォルト設定です）。

未使用の試薬をページすると、ワークフローが最大で 2 時間長くなります。
3. **[Save]** を選択します。

ソフトウェアアップデートの設定

1. Control Softwareのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. ソフトウェアアップデートの有無を自動的に確認するかどうかを選択します。
 - 自動的に確認するには、**[Autocheck for software updates]** チェックボックスを選択します。
 - マニュアルで確認するには、**[Autocheck for software updates]** チェックボックスの選択を解除します。
3. ソフトウェアアップデートの自動確認にはインターネット接続が必要です。ソフトウェアアップデートのインストールの詳細については、[101 ページの「ソフトウェアのアップデート」](#) を参照してください。
4. **[Save]** を選択します。

LCDの明るさの変更

1. Control Softwareのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. **[LCD Brightness]** スライダーを動かして目的のパーセンテージに設定します。
3. **[Save]** を選択します。

プロキシサーバーの設定

プロキシサーバーは、NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3以降でのみサポートされます。

1. Control Softwareのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. 現在のプロキシ設定を選択して **[Proxy Settings]** 画面を開きます。
3. **[Enable Proxy]** チェックボックスを選択し、サーバーのIPポートアドレスを入力します。
4. (オプション) プロキシサーバーに認証が必要な場合、**[Requires Username and Password]** チェックボックスを選択して、ユーザー名とパスワードを入力します。
5. **[Save]** を選択し、プロキシの情報を保存して検証します。
6. 以下のいずれかの方法を選択します。
 - システムを再起動して新しいプロキシ設定を適用するには、**[Yes, I'm Finished]** を選択します。
 - **[Settings]** 画面に戻るには、**[No, Take Me Back]** を選択します。新しいプロキシ設定は保存されますが、システムを再起動するまで適用されません。

カスタムプライマー

NextSeq 1000/2000システムでのランにカスタムプライマーを使用するには、ランセットアップ中に次の追加ステップが必要です。

- 各カスタムプライマーを適量調製し、試薬カートリッジのカスタムプライマー位置に添加します。
- ランセットアップ中にControl Softwareでカスタムプライマーを選択します。

他のすべてのステップについては、[35ページの「ランモードの設定」](#)に記載されているランセットアップのワークフローに従います。

NextSeq 1000/2000では、カスタムプライマーウェルごとに最大で2種類のカスタムリードプライマーまたは2種類のカスタムインデックスプライマーを使用できます。使用できるカスタムプライマーウェルは2つあり、ランごとに最大で4種類のカスタムプライマーを使用できます。

使用するライブラリー調製キットに応じて、イルミナプライマーミックスの使用が必要になる場合があります。XLEAP-SBS化学試薬を使用する場合、詳細については、[38ページの「VP21およびVP14カスタムプライマー」](#)および[39ページの「BP14およびHP21カスタムプライマー」](#)を参照してください。XLEAP-SBSおよびStandard SBS Read and Index Primer Kitのどちらも、Illumina DNA PCR-Free Library Prepを除く、すべてのイルミナライブラリー調製キットで使用できます。XLEAP-SBSカートリッジには、Illumina DNA PCR-Free Library Prep用のプライマーが事前に含まれていますが、スタンダードSBSのカートリッジには含まれていません。

イルミナは、カスタムプライマーの性能や適合性を保証しません。NextSeq 1000/2000システムでのシーケンスに使用するカスタムプライマーの検証は、ユーザーの責任で行ってください。

カスタムプライマーおよびPhiX

ランセットアップ中にControl Softwareでカスタムプライマーを選択すると、カスタム1およびカスタム2ウェルから試薬が吸い上げられます。イルミナプライマーは、シーケンスラン中にリードやインデックスで使用されません。イルミナプライマーとは、最初から試薬カートリッジウェルにあるプライマーを指します。

PhiXコントロールをシーケンスするには、標準のイルミナプライマーが必要です。イルミナプライマーがRead 1およびRead 2で使用されない場合、オプションのPhiXコントロールはシーケンスされません。カスタムプライマーの使用時にPhiXやその他のイルミナライブラリーをプライミングできるようにするには、別売りのイルミナプライマーを購入する必要があります。詳細については、[39ページの「カスタムプライマーの調製と添加」](#)のセクションを参照してください。

i | PhiXはインデックス化されていないため、どのインデックスプライマーを使用する場合でも、インデックスリードに対してPhiXコントロールのシーケンスデータは生成されません。

VP21およびVP14カスタムプライマー

使用するライブラリー調製キットでVP21 Custom Read 1 PrimerまたはVP14 Custom Index 2 Primerが必要な場合は、[40ページの「試薬カートリッジへのカスタムプライマーの添加」](#)に進みます。VP21およびVP14カスタムプライマーは適切な作用濃度で提供されており、調製する必要はありません。VP21には、イルミナDNA PCR-Freeライブラリー用のVP10が含まれています。

BP14およびHP21カスタムプライマー

使用するライブラリー調製キットでBP14 Custom Read 1 PrimerまたはHP21 Custom Index 2 Primerが必要な場合は、[40ページの「試薬カートリッジへのカスタムプライマーの添加」](#)に進みます。BP14およびHP21カスタムプライマーは適切な作用濃度で提供されており、調製する必要はありません。

カスタムプライマーの調製と添加

カスタムプライマーは、HT1を使用して希釈してから、NextSeq 1000/2000試薬カートリッジのカスタムプライマーウェルに添加します。先に進む前に、試薬カートリッジが融解および点検済みであることを確認します。

PhiXまたはイルミナライブラリーと一緒にカスタムまたはサードパーティーライブラリーを調製するには、次のようにカスタムリードプライマーとカスタムインデックスプライマーを適切な試薬に添加します。

- XLEAP-SBS
 - カスタムリードプライマー : VP21
 - カスタムインデックスプライマー : VP14
- スタンダードSBS
 - カスタムリードプライマー : HP21
 - カスタムインデックスプライマー : BP14

カスタムリードプライマーの調製

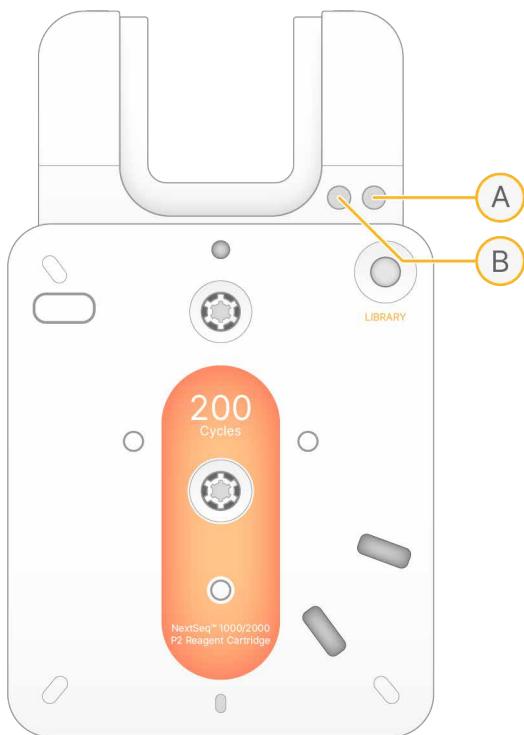
ほとんどのタイプのカスタムライブラリーでは、リードプライマーをまとめて1つのカスタムプライマーウェルにプールでき、インデックスプライマーをまとめて別のカスタムプライマーウェルにプールできます。最適なベースコーリングを実施するには、カスタムリードプライマーとカスタムインデックスプライマーを組み合わせないでください。

以下の手順で使用するカスタムプライマーの量は、カスタムプライマーのストック濃度によって異なります。

1. 凍結している場合、使用する各カスタムプライマーを融解します。
2. カスタムライブラリーまたはサードパーティーライブラリーのみを使用する場合は、次のようにカスタムリードプライマーまたはカスタムインデックスプライマーを調製します。
 - HT1を使用してカスタムリードプライマーミックスを希釈し、総量が600 μL 、各カスタムリードプライマーの最終濃度が0.3 μM になるように調製します。
 - HT1を使用してカスタムインデックスプライマーミックスを希釈し、総量が600 μL 、各カスタムインデックスプライマーの最終濃度が0.6 μM になるように調製します。
3. PhiXまたはイルミナライブラリーと一緒にカスタムまたはサードパーティーライブラリーを使用する場合は、次のようにカスタムリードプライマーまたはカスタムインデックスプライマーを調製します。
 - 各カスタムリードプライマーミックスを600 μL のVP21またはHP21に添加し、最終濃度0.3 μM に調製します。
 - 各カスタムインデックスプライマーミックスを600 μL のVP14またはBP14に添加し、最終濃度0.6 μM に調製します。

試薬カートリッジへのカスタムプライマーの添加

- 清潔なピペットチップを使用して、カスタム1ウェルまたはカスタム2ウェルを覆っているホイルシールに必要に応じて穴を開けます。



- A.** カスタム1ウェル
- B.** カスタム2ウェル

- 550 μL のカスタムプライマーミックスを試薬カートリッジのカスタム1ウェルまたはカスタム2ウェルに添加します。両方のウェルを使用する場合は、550 μL のカスタムプライマーミックスを2番目のウェルに添加します。
液体のこぼれ、気泡、クロスコンタミネーションを避けるために、液体をゆっくりと分注します。
- 1時間以内にシーケンスランを開始します。カートリッジをシステム内に保管すると、カスタムプライマーミックスが蒸発する原因になります。

カスタムプライマーに関するランの設定

ランのセットアップの詳細については、[35ページの「ランモードの設定」](#) を参照してください。

- NextSeq 1000/2000 Control Softwareのランセットアップにおいて、各リードおよびインデックスに対して次のいずれかのオプションを選択します。
 - **No** : イルミナプライマーを使用します。 [No] はデフォルト設定です。
 - **Custom 1** : カスタム1ウェルに添加したプライマーを使用します。
 - **Custom 2** : カスタム2ウェルに添加したプライマーを使用します。
- ランパラメーターの設定が完了したら、 **[Prep]** を選択します。

キット構成

以下に、NextSeq 1000/2000カスタムプライマーで利用可能なキット構成を示します。キットの中身は-25°C～-15°Cで保管してください。

キット名	カタログ番号
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read & Index Primer Kit	20112856
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Index Primer Kit	20112858
NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read Primer Kit	20112859
NextSeq 1000/2000 Standard SBS Read & Index Primer Kit	20046115
NextSeq 1000/2000 Standard SBS Index Primer Kit	20046116
NextSeq 1000/2000 Standard SBS Read Primer Kit	20046117
HT1 Hybridization Buffer	20015892

NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read & Index Primers

数量	略語	試薬名	キャップ色
1	VP14	VP14 index primer mix	黄色
1	VP21	VP21 read primer mix	青色
2	HT1	Hybridization Buffer 1	透明

NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Index Primer Kit

数量	略語	試薬名	キャップ色
10	VP14	VP14 index primer mix	黄色
10	HT1	Hybridization Buffer 1	透明

NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read Primer Kit

数量	略語	試薬名	キャップ色
10	VP21	VP21 read primer mix	青色
10	HT1	Hybridization Buffer 1	透明

NextSeq 1000/2000 Standard SBS Read & Index Primers

数量	略語	試薬名	キャップ色
1	BP14	BP14 index primer mix	黄色
1	HP21	HP21 read primer mix	青色
2	HT1	Hybridization Buffer 1	透明

NextSeq 1000/2000 Standard SBS Index Primer Kit

数量	略語	試薬名	キャップ色
10	BP14	BP14 index primer mix	黄色
10	HT1	Hybridization Buffer 1	透明

NextSeq 1000/2000 Standard SBS Read Primer Kit

数量	略語	試薬名	キャップ色
10	HP21	HP21 read primer mix	青色
10	HT1	Hybridization Buffer 1	透明

HT1 Hybridization Buffer

数量	略語	試薬名	キャップ色
1	HT1	Hybridization Buffer 1	赤色

消耗品および機器

このセクションでは、試薬キットに付属するすべてのアイテムとその保管条件を示します。さらに、プロトコールの実施とメンテナンスおよびトラブルシューティングに必要な補助的な消耗品と機器についても説明します。

シーケンス消耗品

NextSeq 1000/2000システムでのシーケンスには、次のいずれかの消耗品キットが必要です。

表 4 キット構成

キット名	使用可能な構成
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit	<ul style="list-style-type: none"> • 100サイクル • 300サイクル • 600サイクル
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit	<ul style="list-style-type: none"> • 100サイクル • 200サイクル • 300サイクル • 600サイクル
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit*	<ul style="list-style-type: none"> • 100サイクル • 200サイクル • 300サイクル
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit*	<ul style="list-style-type: none"> • 50サイクル • 100サイクル • 200サイクル • 300サイクル
NextSeq 1000/2000 P1 Standard SBS Reagent Kit	<ul style="list-style-type: none"> • 100サイクル • 300サイクル • 600サイクル
NextSeq 1000/2000 P2 Standard SBS Reagent Kit	<ul style="list-style-type: none"> • 100サイクル • 200サイクル • 300サイクル • 600サイクル
NextSeq 2000 P3 Standard SBS Reagent Kit*	<ul style="list-style-type: none"> • 50サイクル • 100サイクル • 200サイクル • 300サイクル

*NextSeq 2000システムにのみ適合します。

試薬キットには、シーケンス用のカートリッジとフローセル、およびRSB with Tween 20が含まれます。試薬キットが届いたら、以下のことに注意してください。

- 適切な性能を確保するため、キット構成品を表記されている温度すぐに保管します。
 - 指示があるまで銀色のホイルバッグを開けないでください。
 - ホイルバッグが破れたり穴が開いたりしないように、カートリッジは箱に入れたまま保管します。
 - カートリッジを保管する際は矢印を上に向けて置きます。
- !** カートリッジのラベルを上に向けないと、シーケンスデータに悪影響が及びます。

表 5 キット構成品

消耗品	数量	保管温度	寸法
カートリッジ	1	-25°C~-15°C	<ul style="list-style-type: none"> スタンダードSBSの100サイクル、200サイクル、または300サイクルのカートリッジ： 29.2 cm × 17.8 cm × 12.7 cm (11.5インチ × 7インチ × 5インチ) スタンダードSBSの600サイクルのカートリッジおよびすべてのXLEAP-SBSカートリッジ： 33.2 cm × 17.8 cm × 12.7 cm (13.1インチ × 7インチ × 5インチ)
フローセル	1	2°C~8°C*	21.6 cm × 12.7 cm × 1.9 cm (8.5インチ × 5インチ × 0.75インチ)
RSB with Tween 20*	1	2°C~8°C	4 cm × 6.6 cm × 5 cm (1.6インチ × 2.6インチ × 2インチ)

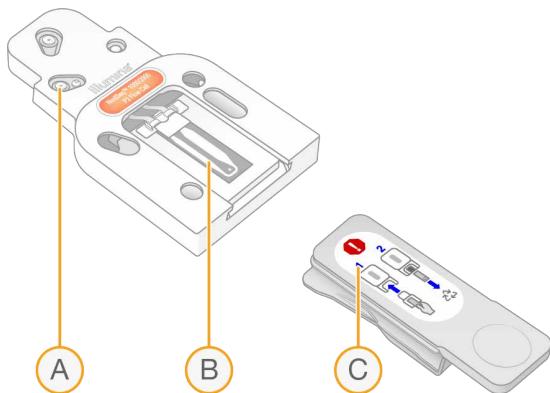
*室温で配送されます。

カートリッジとフローセルには、追跡および適合性確認用の識別子が付いています。カートリッジとフローセルにはRFID¹が使用されています。

フローセル

フローセルはシングルレーンのパターン化フローセルです。ガラス製のフローセルがプラスチックのカートリッジに入っています。安全に取り扱えるように、フローセルはグレーのツマミで覆われており、このツマミがフローセルから突き出ています。

¹無線周波数を利用した自動識別

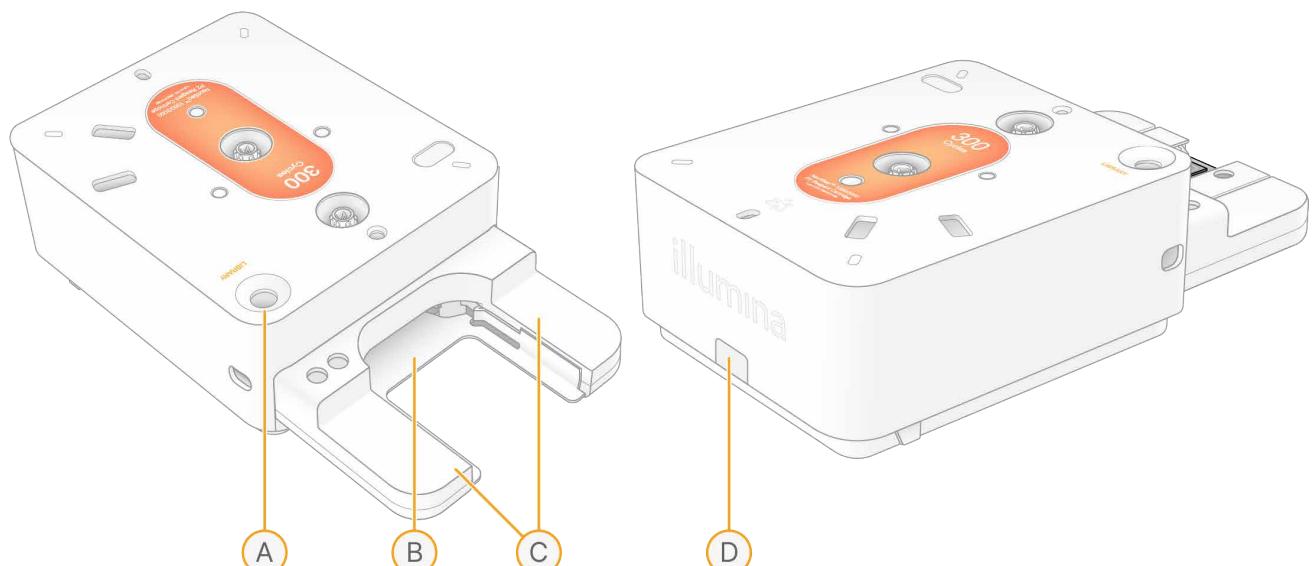


- A.** プラスチックカートリッジ
- B.** フローセル
- C.** グレーのツマミ

フローセルの内側表面は数百万個のナノウェルで覆われています。これらのナノウェル内でクラスターが形成された後、シーケンス反応が実行されます。ナノウェルが整列して配置されていることで、出力されるリード数とデータが増加しています。

カートリッジ

シーケンス試薬カートリッジには、クラスター試薬、シーケンス試薬、ペアエンド試薬、インデックス試薬があらかじめ充填されています。ホイルでシールされたリザーバーはライブラリー専用で、前面にフローセルを差し込むスロットが付いています。



- A.** ライブラリーリザーバー
- B.** フローセルスロット
- C.** アーム
- D.** 排液プラグ

カートリッジには、ランに必要なすべての消耗品（試薬、ライブラリー、フローセル）が含まれています。融解したカートリッジにライブラリーとフローセルをロードした後、カートリッジを装置にロードします。ランの開始後、試薬とライブラリーは自動的にカートリッジからフローセルに移送されます。

カートリッジには、ポンプとバルブ、およびシステム用のすべてのフライディクスコンポーネント（使用済み試薬を回収するための下面のリザーバーなど）が含まれています。カートリッジはラン後に廃棄するため、装置洗浄は必要ありません。

サポートされるサイクル数

カートリッジのラベルに表記されている数字は、解析可能なサイクル数を示します。実行可能なサイクル数ではありません。フローセルはすべてのサイクル数とすべてのリードタイプに対応しています。

すべてのXLEAP-SBSカートリッジには、38サイクル分の試薬が追加で含まれています。NextSeq 2000 P3 Standard SBS Reagent Kitの300サイクルのカートリッジには、27サイクル分の試薬が追加で含まれています。これを除くすべてのスタンダードSBSのカートリッジには、38サイクル分の試薬が追加で含まれています。例えば、NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kitの200サイクルのカートリッジには、最大238サイクルのシーケンスを実行できる量の試薬が入っています。シーケンスのサイクル数については、[69ページの「リードのサイクル数」](#)を参照してください。

記号説明

次の表に、消耗品または消耗品のパッケージに付いている記号を示します。

記号	内容説明
	消耗品の使用期限。最良の結果を得るには、この日付より前に消耗品を使用してください。
	製造者（イルミナ）を示します。
	使用目的は研究に限定されます（RUO）。
	消耗品が製造されたバッチまたはロットを特定するためのバッチコードを示しています。

記号	内容説明
	健康に有害であることを示しています。
	保管温度範囲（摂氏）。表示された範囲内で消耗品を保管してください。 ¹

¹保管温度が配送温度と異なる場合があります。

補助的な消耗品

シーケンスとメンテナンス用に以下の消耗品を購入してください。

シーケンス用の消耗品

表 6 シーケンス用の消耗品

消耗品	サプライヤー
パウダーフリーの使い捨て手袋	一般的なラボ用品サプライヤー
NextSeq 1000/2000 P1 XLEAP-SBS Reagent Kit（最大1億のシングルリード）	イルミナ： カタログ番号：20100983 (100サイクル) カタログ番号：20100982 (300サイクル) カタログ番号：20100981 (600サイクル)
NextSeq 1000/2000 P2 XLEAP-SBS Reagent Kit (最大4億のシングルリード)	イルミナ： カタログ番号：20100987 (100サイクル) カタログ番号：20100986 (200サイクル) カタログ番号：20100985 (300サイクル) カタログ番号：20100984 (600サイクル)

消耗品	サプライヤー
NextSeq 2000 P3 XLEAP-SBS Reagent Kit (最大12億のシングルリード)	イルミナ： カタログ番号：20100990 (100サイクル) カタログ番号：20100989 (200サイクル) カタログ番号：20100988 (300サイクル)
NextSeq 2000 P4 XLEAP-SBS Reagent Kit (最大18億のシングルリード)	イルミナ： カタログ番号：20100995 (50サイクル) カタログ番号：20100994 (100サイクル) カタログ番号：20100993 (200サイクル) カタログ番号：20100992 (300サイクル)
NextSeq 1000/2000 P1 Standard SBS Reagent Kit (最大1億のシングルリード)	イルミナ： カタログ番号：20074933 (100サイクル) カタログ番号：20050264 (300サイクル) カタログ番号：20075294 (600サイクル)
NextSeq 1000/2000 P2 Standard SBS Reagent Kit (v3) (100サイクル、200サイクル、および300サイクルのキットでは、最大4億のシングルリード。600サイクルのキットでは、最大3億のシングルリード)	イルミナ： カタログ番号：20046811 (100サイクル) カタログ番号：20046812 (200サイクル) カタログ番号：20046813 (300サイクル) カタログ番号：20075295 (600サイクル)

消耗品	サプライヤー
NextSeq 2000 P3 Standard SBS Reagent Kit (最大12億のシングルリード)	イルミナ： カタログ番号：20046810 (50サイクル) カタログ番号：20040559 (100サイクル) カタログ番号：20040560 (200サイクル) カタログ番号：20040561 (300サイクル)
1.5 mLマイクロ遠心チューブ	Fisher Scientific、カタログ番号： 14-222-158または同等の低吸着チューブ
ピペットチップ、10 μL	一般的なラボ用品サプライヤー
ピペットチップ、20 μL	一般的なラボ用品サプライヤー
ピペットチップ、200 μL	一般的なラボ用品サプライヤー
ピペットチップ、1000 μL	一般的なラボ用品サプライヤー
(オプション) PhiX Control v3	イルミナ、カタログ番号：FC-110-3001
(オプション) ペーパータオル	一般的なラボ用品サプライヤー

メンテナンス用の消耗品

表7 メンテナンス用の消耗品

消耗品	サプライヤー	目的
パウダーフリーの使い捨て手袋	一般的なラボ用品サプライヤー	一般的な用途。
交換用NextSeq 1000/2000エアフィルター*	イルミナ、カタログ番号：20029759 (单一フィルター) または20115807	6ヶ月ごとのエアフィルター交換用。

*エアフィルターは、装置保証および装置サービス契約の対象です。保守外の場合、交換品はユーザーが用意します。使用するまでパッケージから出さないでください。

マニュアルでの変性および希釈用の消耗品（オプション）

変性と希釈については、「Denature and Dilute Protocol Generator」を参照してください。

補助的な機器

シーケンス用の機器

シーケンス用に以下の機器を購入してください。

アイテム	ソース	目的
冷凍庫、-25°C~-15°C	一般的なラボ用品サプライヤー	カートリッジの保管。
遠心機	一般的なラボ用品サプライヤー	ローディング濃度へのライブラリーの希釈。
アイスパケット	一般的なラボ用品サプライヤー	シーケンスまでのライブラリー保管。
ピペット、10 μL	一般的なラボ用品サプライヤー	ローディング濃度へのライブラリーの希釈。
ピペット、20 μL	一般的なラボ用品サプライヤー	ローディング濃度へのライブラリーの希釈と、ライブラリーのカートリッジへのロード。
ピペット、200 μL	一般的なラボ用品サプライヤー	ローディング濃度へのライブラリーの希釈。
冷蔵庫、2°C~8°C	一般的なラボ用品サプライヤー	フローセルの保管またはカートリッジの融解。
ボルテックス	一般的なラボ用品サプライヤー	ローディング濃度へのライブラリーの希釈。
(オプション) 25°Cを保持できる、以下の温調されたウォーターバスのいずれかまたは同等品	<ul style="list-style-type: none"> • Thermo Fisher Scientific、カタログ番号 : TSCIR 35 • Shel Lab、カタログ番号 : SWBC22 <ul style="list-style-type: none"> • Thermo Scientific Precision 35L循環式ウォーターバス（同時に5カートリッジを保持） • SHEL LAB 22Lデジタル循環式ウォーターバス（同時に3カートリッジを保持） 	カートリッジの融解。

マニュアルでの変性および希釈用の機器（オプション）

調製済みライブラリーをNextSeq 1000/2000でシーケンスするためにマニュアルで変性して希釈する方法については、「[Denature and Dilute Protocol Generator](#)」を参照してください。

XLEAP-SBSシーケンスプロトコール

このセクションでは、XLEAP-SBS消耗品の準備、ライブラリーの希釈、および4種類のランモードのいずれかでシーケンスランの設定を行う手順について説明します。クラウド、ハイブリッド、およびローカルモードではDRAGENまたはBaseSpace Sequence Hubアプリを使用するのに対し、スタンドアロンモードは、CBCLデータの生成のみを目的としたカスタム解析ワークフロー専用のスタンドアロンランです。

試薬およびその他の化学薬品を取り扱うときは、保護メガネ、ラボコートおよびパウダーフリーの手袋を装着してください。

プロトコールを開始する前に必要な消耗品および機器が揃っていることを確認してください。[43ページの「消耗品および機器」](#)を参照してください。

指定の量、温度、および所要時間に従い、記載された順序でプロトコールを実施してください。

XLEAP-SBSシーケンスに関する考慮事項

プロトコールを開始する前に、以下の情報に従ってライブラリーの希釈とランのセットアップを準備します。シーケンスと解析を正しく行うには、ローディング濃度を最適にすることが重要です。リードのサイクル数を適切に入力することで、最適なデータ出力が得られます。

BaseSpace Sequence Hubでのランを計画する方法の詳細については、[BaseSpace Sequence Hubのサポートページ](#)を参照してください。

ローディング量とローディング濃度については、[「Denature and Dilute Protocol Generator」](#)を参照してください。

リードのサイクル数

各リードに対して入力するサイクル数を最小26サイクル、最大301サイクルの範囲にすると、データ品質の確保に役立ちます。適切なサイクル数は実験に応じて異なります。Read 1には少なくとも1サイクルが必要ですが、Read 1のサイクル数が26未満の場合は警告が表示されます。

Read 1、Index 1、Index 2、Read 2のサイクル数の合計は、キットでサポートされているサイクル数に38を足した数より大きくすることはできません。Index 1およびIndex 2のサイクル数が6サイクルより少ない場合は、警告が表示されます。ただし、Index 1またはIndex 2が0サイクルの場合、警告は表示されません。

最小および最大サイクル数には、余剰の1サイクルが含まれます。フェージングとプレフェージングの影響を補正するため、必ず目的のリード長に1サイクルを加えてください。リード長とは、Read 1とRead 2のシーケンスサイクル数のことです。リード長には余剰のサイクルとインデックスサイクルは含まれません。詳細については、[88ページの「Real-Time Analysisのワークフロー」](#)の「フェージングの補正」を参照してください。

ランセットアップの例：

- リード長が35（シングルリード）の場合は、[Read 1] フィールドに「**36**」と入力します。
- リード長が1リードあたり150（ペアエンド）の場合は、[Read 1] フィールドに「**151**」、[Read 2] フィールドに「**151**」と入力します。
- リード長が1リードあたり300（ペアエンド）の場合は、[Read 1] フィールドに「**301**」、[Read 2] フィールドに「**301**」と入力します。

XLEAP-SBS消耗品の融解

このステップでは、温調ウォーターバス、冷蔵庫、室温のいずれかの方法を使用して、**未開封の袋**に入っているカートリッジを融解します。融解後のカートリッジは、再凍結せずに速やかに使用してください。融解したカートリッジをすぐに使用できない場合は、[107ページの「消耗品を冷蔵庫に戻す」](#)を参照してください。

- !** 破れた袋や穴が開いた袋のカートリッジをランに使用することは、シーケンスの失敗につながる可能性があるため、推奨しません。

図 4 袋入りカートリッジ



温調ウォーターバスでの融解

1. 新しいパウダーフリーの手袋をつけ、冷凍庫からカートリッジを取り出します。
 2. 箱からカートリッジを取り出しますが、**銀色のホイルバッグは開けないでください。**
 3. 袋入りのカートリッジを25°Cの温調ウォーターバスに入れ、8時間かけて融解します。10時間を超えないようにしてください。
 - 融解するカートリッジの数に関係なく、水深は少なくとも9.5~10 cmに維持します。
 - 袋のラベルを上に向けてウォーターバスに入れます。水中に完全に沈めないでください。
- !** カートリッジを沈めるためにおもりを載せたりしないでください。袋のラベルが上を向いていない場合、または融解中にカートリッジが裏返しになった場合は、シーケンスデータに悪影響が及びます。
- ウォーターバスでサポートされている数を超えるカートリッジを同時に融解しないでください。[50ページの「補助的な機器」](#)を参照してください。
 - カートリッジを重ね置きしないでください。
4. カートリッジをウォーターバスから取り出し、ペーパータオルで水分を拭き取ります。

冷蔵庫での融解

1. 予定されているランの前日に、-25°C～-15°Cの冷凍庫からカートリッジを取り出します。
2. 新しいパウダーフリーの手袋をつけます。
3. 箱からカートリッジを取り出しますが、**銀色のホイルバッグは開けないでください。**
4. カートリッジを室温にさらします。その際、ラベルを上に向けて置き、側面と上部を空気が循環するようにします。

! | 袋のラベルを上に向けないと、シーケンスデータに悪影響が及びます。
5. 室温で6時間融解します。
6. カートリッジを2°C～8°Cの冷蔵庫に入れます。その際、ラベルを上に向けて側面を空気が循環するようにします。

! | 袋のラベルを上に向けないと、シーケンスデータに悪影響が及びます。
7. 冷蔵庫で16時間融解します。72時間を超えないようにしてください。
8. シーケンスの前に、未開封のカートリッジを室温で15分以上放置します。1時間を超えないようにしてください。

室温での融解

1. 新しいパウダーフリーの手袋をつけます。
2. -25°C～-15°Cの冷凍庫からカートリッジを取り出します。
3. 箱からカートリッジを取り出しますが、**銀色のホイルバッグは開けないでください。**
4. ラベルを上に向けてカートリッジを置き、側面と上部を空気が循環するようにします。

! | 袋のラベルを上に向けないと、シーケンスデータに悪影響が及びます。
5. 室温で12時間融解します。16時間を超えないようにしてください。

フローセルの準備

1. 2°C～8°Cの冷蔵庫から新しいフローセルを取り出します。
2. 未開封のパッケージを室温で10～15分放置し、パッケージからフローセルを取り出す際の結露を防ぎます。フローセルの温度が室温になったらフローセルの準備を行います。
3. 冷蔵庫を使用して融解した場合は、2°C～8°Cの冷蔵庫から融解したカートリッジを取り出します。

装置上でのXLEAP-SBSの変性および希釈

装置上での変性と希釈については、[「Denature and Dilute Protocol Generator」](#) を参照してください。

マニュアルでのXLEAP-SBSの変性および希釈

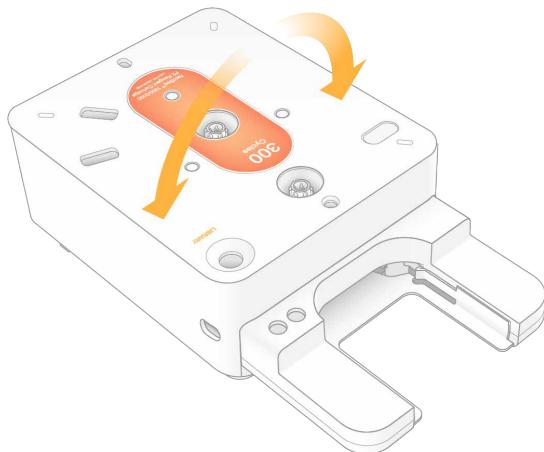
マニュアルでの変性と希釈については、[「Denature and Dilute Protocol Generator」](#) を参照してください。

XLEAP-SBS消耗品のカートリッジへのロード

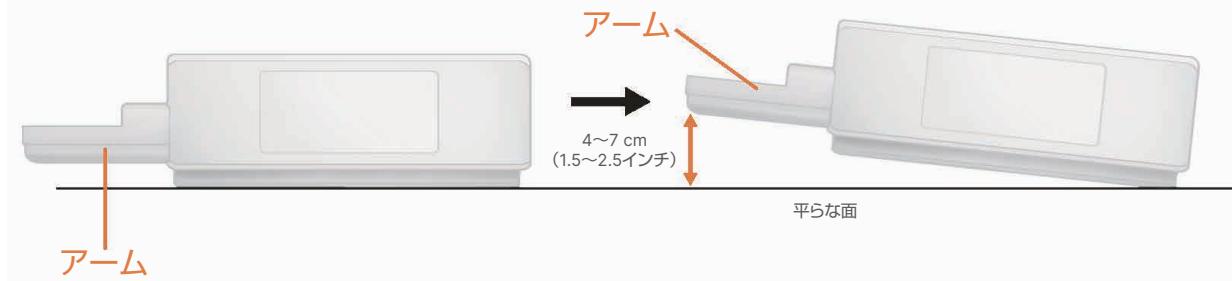
このステップでは、XLEAP-SBSカートリッジをシーケンスに使用する準備として、あらかじめ充填されている試薬を混ぜ合わせ、希釈済みライブラリーとフローセルをロードします。

カートリッジの準備

1. 上部の両側にある切れ込みから破いて、カートリッジの袋を開き、袋からカートリッジを取り出します。
袋と乾燥剤（吸湿用の小袋）を処分します。
2. カートリッジをゆっくりと10回転倒混和し、試薬を混ぜ合わせます。
転倒中に内部コンポーネントが音を立てますが、これは正常です。



3. (XLEAP-SBSケミストリー) カートリッジを平らな面に置きます。カートリッジのアームを使用してカートリッジを平らな面から約4~7 cm (1.5~2.5インチ) 上に持ち上げ、ベンチの上に落とす動作を5回繰り返します。
このプロセスにより、気泡が減り、カートリッジのコンポーネントが安定します。カートリッジを誤って落下させた場合、このプロセスをやり直します。

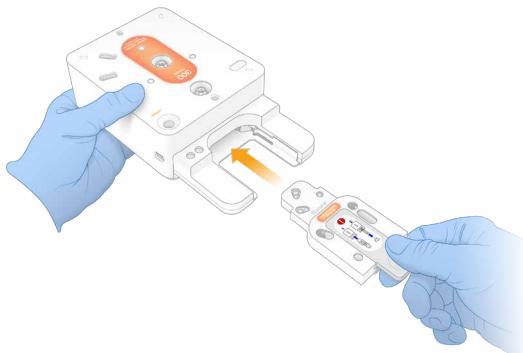


フローセルのロード

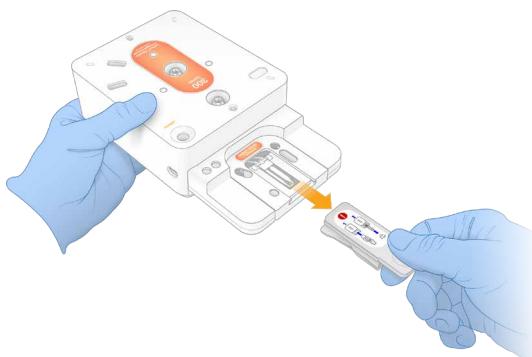
1. 上部の両側にある切れ込みから破くかはさみで切って、銀色のホイルパッケージを開きます。フローセルをすぐに使用できない場合は、[107ページの「消耗品を冷蔵庫に戻す」](#)を参照してください。
2. フローセルをパッケージから引っ張り出します。
フローセルを冷蔵庫に戻す場合に備えて、ホイルパッケージと乾燥剤は取っておきます。乾燥剤はホイルパッケージの底にある小袋に入っています。シーケンスが開始されたら、パッケージと乾燥剤を処分します。



3. ラベルを上に向けてフローセルのグレーのツマミを持ちます。
4. カートリッジの前面のスロットにフローセルを押し込みます。
カチッと音がしてフローセルが固定されます。適切にロードすると、グレーのツマミがカートリッジから突き出た状態になります。



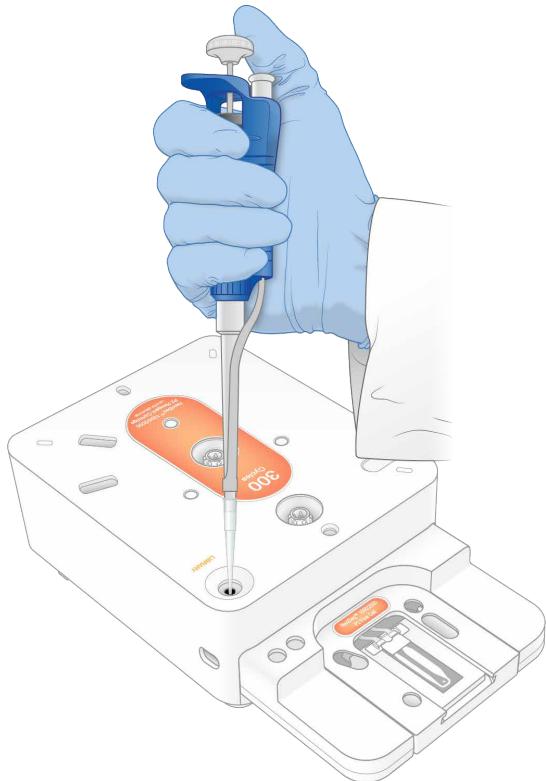
5. グレーのツマミを引っ張って取り外し、フローセルを露出させます。ツマミはリサイクルします。



ライブラリーのロード

1. 新しい1000 μL のピペットチップを使用してライブラリーリザーバーに穴を開け、ホイルを端に押して穴を広げます。
2. コンタミネーションを避けるため、ピペットチップを廃棄します。

3. 希釀済みライブラリーの入ったピペットチップをリザーバーの底までゆっくりと下げ、希釀済みライブラリーをリザーバーの底に加えます。ホイルに触れないように注意してください。
- 装置上での変性および希釀プロセスを使用する場合は、20 μL の希釀済みライブラリーを加えます。
 - マニュアルでの変性および希釀プロセスを使用する場合は、200 μL の希釀済みライブラリーを加えます。



XLEAP-SBSシーケンスランの開始

このステップでは、以下の4つのモードのいずれかでXLEAP-SBSシーケンスランを開始します。

- **クラウドモード**：ランは、NextSeq 1000/2000 Control Softwareの [Planned Runs] のリストから選択されます。シーケンス中にCBCLデータがBaseSpace Sequence Hubにアップロードされます。シーケンスが完了すると、BaseSpace Sequence HubでDRAGENが自動的に開始されます。
- **ハイブリッドモード**：ランは、NextSeq 1000/2000 Control Softwareの [Planned Runs] のリストから選択されます。シーケンスが完了すると、装置上の解析が自動的に開始されます。CBCLデータとDRAGENの二次解析出力ファイルが、選択された出力フォルダーに保存されます。
- **ローカルモード**：v2ファイル形式のサンプルシートをマニュアルでNextSeq 1000/2000 Control Softwareにインポートします。シーケンスが完了すると、装置上の解析が自動的に開始されます。CBCLデータとDRAGENの二次解析出力ファイルが、選択された出力フォルダーに保存されます。
[Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、シーケンス完了後にBaseSpace Sequence Hubアプリを介して解析を開始することもできます。
- **スタンドアロンモード**：ランをセットアップし、NextSeq 1000/2000 Control Softwareの手順に従ってCBCLデータを生成します。

! | プレランチェック中またはラン中にバイザーを開くと、ランが失敗する可能性があります。

! | バイザーの開閉中は、怪我をしないよう装置に手を近づけないでください。

クラウドランまたはハイブリッドランの開始

1. [35ページの「ランモードの設定」](#) の説明に従って、ランモードを設定します。
2. [Start] を選択します。
3. BaseSpace Sequence Hubのサインイン認証情報を入力し、[Sign In] を選択します。
4. [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、BaseSpace Sequence HubのRun Planningで作成したランを含むワークグループを選択します。

! 間違いを避けるため、ワークグループの選択は必須です。続行する前にワークグループを選択したことを確認してください。
5. [Next] を選択します。
6. ランを選択します。
7. [Analysis] 、 [Run Length] 、 [Secondary Analysis] のバージョンが、正しいランと一致していることを確認します。 [Analysis] に [Cloud_] と表示され、解析がBaseSpace Sequence Hubで行われることを示します。
8. [Review] を選択します。
9. (オプション) カスタムリードプライマーとカスタムインデックスプライマーの位置を入力します。カスタムプライマーの調製と添加の詳細については、[38ページの「カスタムプライマー」](#) を参照してください。使用するライブラリー調製キットのCompatible Productsページを参照して、イルミナカスタムプライマーが必要かどうかを確認してください。
10. (オプション) カスタムレシピを選択します。詳細については、[112ページの「ダークサイクルシーケンス」](#) を参照してください。
Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kitまたはIllumina Stranded mRNA Prep kitを使用する場合は、カスタムレシピが自動的に選択されます。
11. (オプション) ライブラリーをマニュアルで変性して希釈するには、 [Denature and Dilute On Board] チェックボックスの選択を解除します。[54ページの「マニュアルでのXLEAP-SBSの変性および希釈」](#) を参照してください。
デフォルト設定は、NextSeq 1000/2000 Control Softwareの設定に従います。
12. (オプション) 出力フォルダーを変更するには、 [Output Folder] フィールドを選択して新しい場所を入力します。
[Output Folder] フィールドはデフォルト設定から自動入力されます。 [Proactive, Run Monitoring and Storage] が選択されている場合を除き、出力フォルダーは必須です。
[Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、 [Save to BaseSpace Sequence Hub] に [Enabled] と表示されます。
[Proactive and Run Monitoring] を選択した場合は、 [Save to BaseSpace Sequence Hub] に [Disabled] と表示されます。
13. ラン情報を確認し、 [Prep] を選択します。

ローカルランの開始

1. [35ページの「ランモードの設定」](#) の説明に従って、ランモードを設定します。
2. [Start] を選択します。

3. [Proactive, Run Monitoring and Storage] または [Proactive and Run Monitoring] を選択した場合は、BaseSpace Sequence Hubのサインイン認証情報を入力し、 [Sign In] を選択します。

4. [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、ランを保存するBaseSpace Sequence Hubのワークグループを選択し、 [Next] を選択します。

! | 間違いを避けるため、ワークグループの選択は必須です。続行する前にワークグループを選択したことを確認してください。

5. [Start With Sample Sheet] の [Choose...] を選択し、NextSeq 1000/2000装置、ポータブルドライブ、またはマウントされたネットワークドライブにあるv2サンプルシートの場所に移動します。サンプルシートのファイル名には特殊文字を使用できません。

NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3以降では、サンプルシートからDRAGENのバージョンが自動的に検出され、必要に応じてバージョンを切り替えるように指示されます。システムには該当するバージョンのDRAGENがインストールされている必要があります。インストールについては、[101ページの「ソフトウェアのアップデート」](#)を参照してください。

- **Run Planning Used** : 該当する場合は、サンプルシートv2とサポートファイルが入っている.zipフォルダーを選択します。そうでない場合は、サンプルシートv2を選択します。
- **Run Planning Not Used** : 二次解析サポートファイルがサンプルシートv2と同じディレクトリにあることを確認します。

i | 選択したサンプルシートはv2形式でなければなりません。サンプルシートv2を作成するには、BaseSpace Sequence HubのRun Planningから生成済みのサンプルシートをダウンロードするか、NextSeq 1000/2000サポートページで提供されているサンプルシートv2テンプレートを編集します。サンプルシートv2の形式と要件の詳細については、[オンライン上のSample Sheet v2のページ](#)を参照してください。サンプルシートで参照されているすべてのファイルがサンプルシートと同じフォルダーにあることを確認してください。

6. [Review] を選択します。

7. (オプション) カスタムリードプライマーとカスタムインデックスプライマーの位置を入力します。カスタムプライマーの調製と添加の詳細については、[38ページの「カスタムプライマー」](#)を参照してください。使用するライブラリー調製キットのCompatible Productsページを参照して、イルミナカスタムプライマーが必要かどうかを確認してください。

8. (オプション) カスタムレシピを選択します。詳細については、[112ページの「ダークサイクルシケンス」](#)を参照してください。

Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kitまたはIllumina Stranded mRNA Prep kitを使用する場合は、カスタムレシピが自動的に選択されます。

9. (オプション) ライブラリーをマニュアルで変性して希釈するには、 [Denature and Dilute On Board] チェックボックスの選択を解除します。[54ページの「マニュアルでのXLEAP-SBSの変性および希釈」](#)を参照してください。

デフォルト設定は、NextSeq 1000/2000 Control Softwareの設定に従います。

10. (オプション) 出力フォルダーを変更するには、 [Output Folder] フィールドを選択して新しい場所を入力します。

[Output Folder] フィールドはデフォルト設定から自動入力されます。 [Proactive, Run Monitoring and Storage] が選択されている場合を除き、出力フォルダーは必須です。

[Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、 [Save to BaseSpace Sequence Hub] に [Enabled] と表示されます。

[Proactive and Run Monitoring] を選択した場合は、 [Save to BaseSpace Sequence Hub] に [Disabled] と表示されます。

11. ラン情報を確認し、 [Prep] を選択します。

スタンドアロンランの開始

1. [35ページの「ランモードの設定」](#) の説明に従って、ランモードを設定します。
 2. [Start] を選択します。
 3. [Proactive, Run Monitoring and Storage] または [Proactive and Run Monitoring] を選択した場合は、BaseSpace Sequence Hubのサインイン認証情報を入力し、 [Sign In] を選択します。
 4. [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、ランを保存するBaseSpace Sequence Hubのワークグループを選択し、 [Next] を選択します。
 5. [Set Up New Run] を選択します。
 6. [Run Name] フィールドに、セットアップするランを識別するための固有の名前を入力します。ラン名には、英数字、ダッシュ、ハイフン、アンダースコアを使用できます。
 7. [Read Type] で、実行するシーケンスリードの回数を選択します。
 - **Single Read** : 1リードのみを実行します。これは簡便性と速度を重視したオプションです。
 - **Paired End** : リードを2回実行します。2回のリードを統合することで、高品質なデータが得られ、アライメントの精度が向上します。
 8. 各リードで実行するサイクル数を入力します。
インデックスサイクル数に上限はありませんが、リードサイクルとインデックスサイクルの合計数を、カートリッジラベルに記載されているサイクル数に38を足した数より小さくする必要があります。[46ページの「サポートされるサイクル数」](#) を参照してください。
 - **Read 1** : 26~301のサイクル数を入力します。
 - **Index 1** : インデックス1 (i7) プライマーのサイクル数を入力します。PhiXのみのランの場合は、両方のインデックスフィールドに「0」と入力します。
 - **Index 2** : インデックス2 (i5) プライマーのサイクル数を入力します。
 - **Read 2** : 301サイクルまでの値を入力します。この値は通常、 [Read 1] の値と同じです。
 9. [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合、 [Choose...] を選択してサンプルシートをインポートします。NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3以降では、サンプルシートからDRAGENのバージョンが自動的に検出され、必要に応じてバージョンを切り替えるように指示されます。システムには該当するバージョンのDRAGENがインストールされている必要があります。インストールについては、[101ページの「ソフトウェアのアップデート」](#) を参照してください。
- i** | 選択したサンプルシートはv2形式でなければなりません。サンプルシートv2を作成するには、BaseSpace Sequence HubのRun Planningから生成済みのサンプルシートをダウンロードするか、NextSeq 1000/2000サポートページで提供されているサンプルシートv2テンプレートを編集します。サンプルシートv2の形式と要件の詳細については、[オンライン上のSample Sheet v2のページ](#) を参照してください。サンプルシートで参照されているすべてのファイルがサンプルシートと同じフォルダーにあることを確認してください。

10. (オプション) カスタムリードプライマーとカスタムインデックスプライマーの位置を入力します。カスタムプライマーの調製と添加の詳細については、[38ページの「カスタムプライマー」](#) を参照してください。使用するライブラリー調製キットのCompatible Productsページを参照して、イルミナカスタムプライマーが必要かどうかを確認してください。
11. (オプション) カスタムレシピを選択します。詳細については、[112ページの「ダークサイクルシーケンス」](#) を参照してください。
12. (オプション) ライブラリーをマニュアルで変性して希釈するには、[\[Denature and Dilute On Board\]](#) チェックボックスの選択を解除します。[72ページの「マニュアルでのスタンダードSBSの変性および希釈」](#) を参照してください。
デフォルト設定は、NextSeq 1000/2000 Control Softwareの設定に従います。
13. (オプション) 出力フォルダーを変更するには、[\[Output Folder\]](#) フィールドを選択して新しい場所を入力します。
[Output Folder] フィールドはデフォルト設定から自動入力されます。 [Proactive, Run Monitoring and Storage] が選択されている場合を除き、出力フォルダーは必須です。
14. [\[Prep\]](#) を選択します。

消耗品を装置にロード

- （グレーのツマミを取り外した）フローセルと希釀済みライブラリーをロードする前に、カートリッジがすでに融解していて、[54ページの「カートリッジの準備」](#)に従って準備されていることを確認します。
- [Load]** を選択します。
バイザーが開いてトレイが排出されます。
- カートリッジをトレイに載せます。その際、ラベルを上に向け、フローセルが装置の中に入るようになります。カートリッジを押し込んで固定します。



- [Close]** を選択します。カートリッジが格納されてバイザーが閉まります。
約3分後、スキャンされた消耗品の情報が表示されます。
- （オプション） **[Eject Cartridge]** を選択し、カートリッジを取り出します。
1分後にバイザーが開き、カートリッジが排出されます。
- [Sequence]** を選択します。

プレランチェック

プレランチェックでは、装置チェックの後にフレイディクスチェックが行われます。フレイディクスチェック中にカートリッジのシールに穴が開けられます。このとき、ポンという音が3~4回装置から聞こえますが、この音は正常です。これで試薬がフローセルを通過できるようになります。

! フレイディクスチェックが開始された後、消耗品は再利用できません。

- プレランチェックが完了するまで15分ほど待ちます。
正常に完了すると、ランが自動的に開始します。
- 装置チェック中にエラーが発生した場合は、**[Retry]** を選択してチェックをやり直します。
チェックが進行している間、現在のチェック項目を示す円が表示されます。
- 繰り返し発生するエラーのトラブルシューティングを行うには、[107ページの「エラーメッセージの解消」](#)を参照してください。

ランの進捗状況のモニタリング

1. [Sequencing] 画面に表示されるランの進捗状況とメトリクスをモニタリングします。
 - **Estimated run completion** : ランが完了する予想日時。Estimated run completionメトリクスでランの完了日時を正確に計算するには、既にランを10回実行している必要があります。
 - **Average %Q30** : Qスコアが30以上であるベースコードの平均比率。
 - **Projected Yield** : そのランでコードされる塩基の予想数。
 - **Total Reads PF** : フィルターを通過したペアエンド（該当する場合）クラスターの数（百万単位）。
 - **Real Time Demux** : Read 1、Index 1、Index 2のサイクルが完了した後、Read 2の開始時に行われるデマルチプレックスのステータス。インデックスサイクルが実行されていない場合でも、ステータスは [Complete] と表示されます。クラウドモードのランでは使用できません。
 - **Real Time Alignment** : Read 1、Index 1、Index 2のサイクルが完了した後、Read 2の開始時に行われるRead 1のアライメントのステータス。クラウドモードのランでは使用できません。

Q30 と Yield のメトリクスは、26 サイクル以降に表示されます。
2. ランのプロセスをモニタリングするには、Control Softwareのメニューから **[Process Management]** を選択します。
3. ランを取り消すには、**[End Run]** を選択します。ランの取り消しの詳細については、108ページの「ランの取り消し」を参照してください。
4. 装置から消耗品を取り出します。カートリッジは3日以内に装置から取り出してください。

XLEAP-SBSポストラン作業の実施

消耗品の取り出し

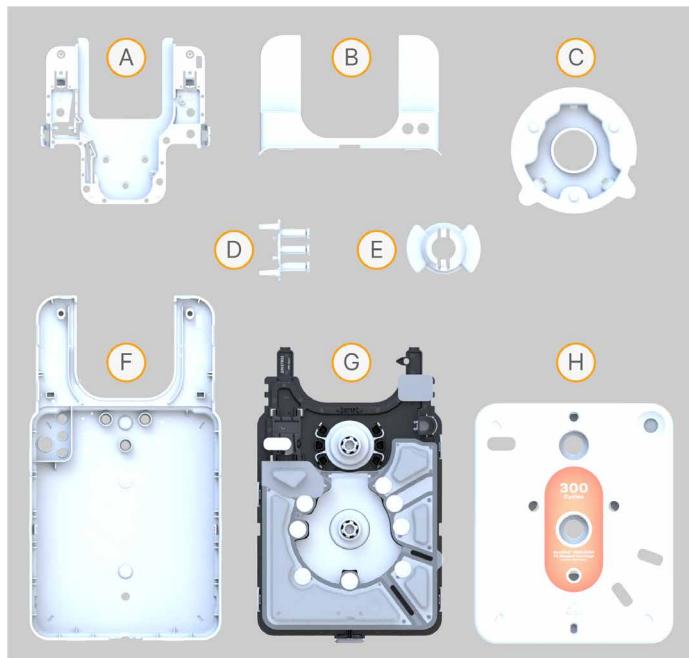
1. シーケンスが完了したら、**[Eject Cartridge]** を選択します。
使用済みのカートリッジが装置から排出されます。
 2. トレイからカートリッジを取り出します。
 3. フローセルをカートリッジから取り出します。
 4. フローセルには電子部品が含まれています。各地域の適切な基準に従って、フローセルを廃棄します。
 5. (オプション) 適切なエリア（シンクまたは有害液体用廃棄容器）の上でカートリッジ側面のイルミナロゴの下にある排液プラグを外します。その際、プラグを水平または下に向けて自分の顔から離れるようにしてください。各地域の適切な基準に従って、使用済みの試薬を排液します。自動試薬ページを有効にしていない場合、排液にかかる時間はカートリッジのサイズによって異なります。
- !** | この試薬一式には有害な可能性のある化学物質が含まれます。吸引、嚥下、皮膚への接触、目への接触により身体傷害を生じる危険があります。試薬内の有害物質に対処するため、適切に換気してください。曝露リスクに適したゴーグル、手袋、実験着などの保護具を着用してください。使用済み試薬は化学廃棄物として取り扱い、各地域、国、および現地の適用法に従って廃棄してください。環境、健康、および安全に関する詳細な情報については、jp.support.illumina.com/sds.htmlに掲載されているSDSを参照してください。

6. カートリッジシェルはリサイクルし、試薬カートリッジは廃棄します。詳細については、[63ページの「カートリッジのコンポーネントのリサイクル」](#)を参照してください。
7. 試薬カートリッジを廃棄します。
フルイディクスコンポーネントはカートリッジとともに廃棄されるため、ポストランウォッシュは必要ありません。
8. [Close Door] を選択し、トレイを再ロードして [Home] 画面に戻ります。
トレイが自動的に再ロードされ、センサーによってカートリッジの取り出しが確認されます。

カートリッジのコンポーネントのリサイクル

カートリッジに使用されているプラスチックは、各地域の固体廃棄物リサイクルガイドラインに従ってリサイクルできる場合があります。各地域の固体廃棄物リサイクル業者に問い合わせるか、自治体が指定するリサイクル手順を確認してください。

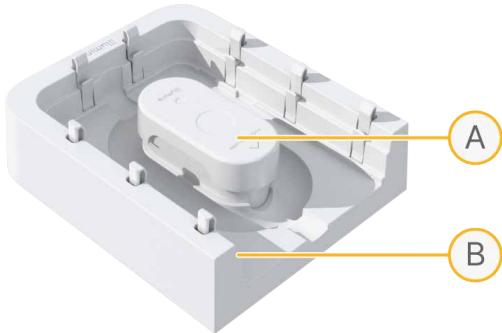
以下にカートリッジのコンポーネントを示します。試薬ウェルプレートとフローセルはリサイクルできません。



- A. フローセルトレイ
- B. フローセルシェル
- C. ピアッサー
- D. バルブアセンブリ
- E. ローターバルブカバー
- F. 底面シェル
- G. 試薬ウェルプレート
- H. 上面シェル

カートリッジシェルは以下のようにリサイクルします。

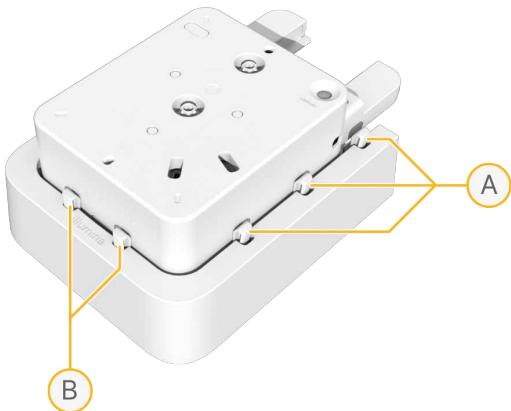
1. カートリッジから排液されていることを確認します。
2. パンチツールを取り外します。



A. パンチツール

B. 固定具

3. 固定具の幅が広いほうの端部をベンチトップと平行になるように配置します。
4. 固定具のツメの上にカートリッジを置きます。カートリッジを下に押す必要はありません。



A. ツメ

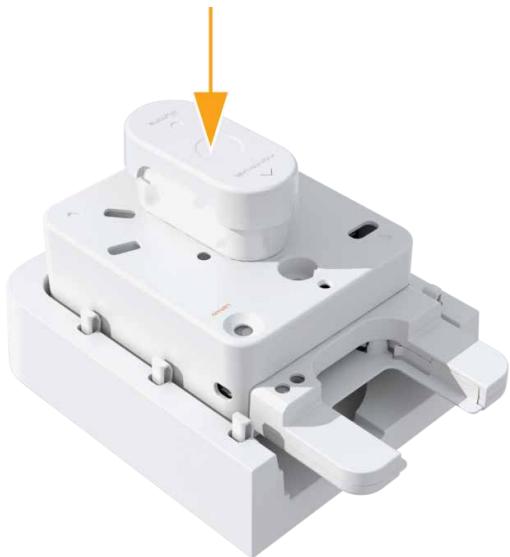
B. 後方のツメ

5. カートリッジの位置を後方の2個のツメに合わせます。
6. パンチツールの位置をカートリッジ上面にあるラベルに合わせます。

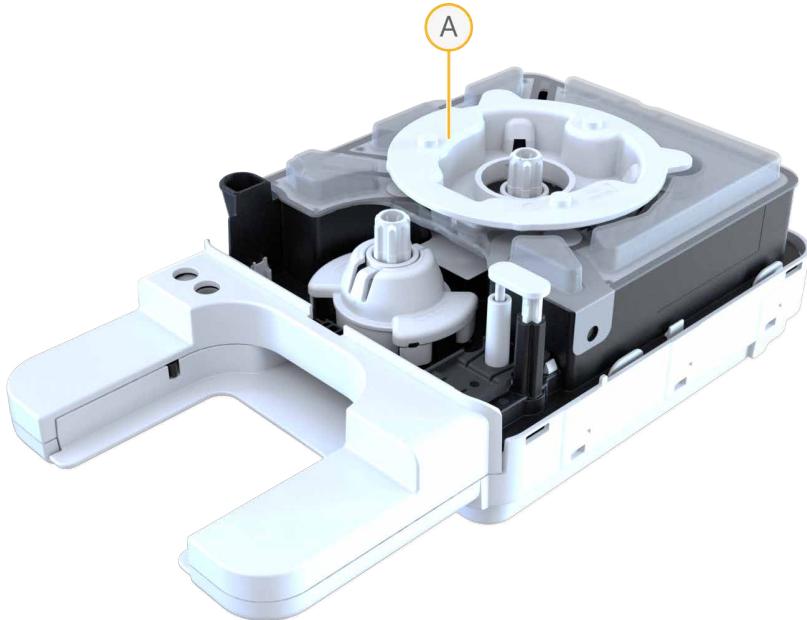


7. パンチツールを強い力ですばやく下に押して、カートリッジシェルを分離します。

カートリッジシェルにかける力が不十分な場合、シェルが完全に分離されないことがあります。カートリッジシェルが部分的にしか分離されなかった場合、カートリッジを固定具から取り外し、シェルを開じてから、パンチツールでもう少し強い力をかけます。

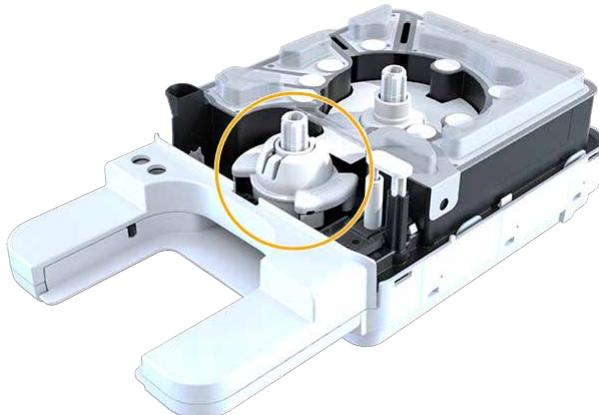


8. カートリッジからピップサーを取り外します。



A. ピップサー

9. ローターバルブアセンブリの前方からカバーを取り外します。



10. フローセルシェルを取り外すには、次のいずれかの方法を使用します。

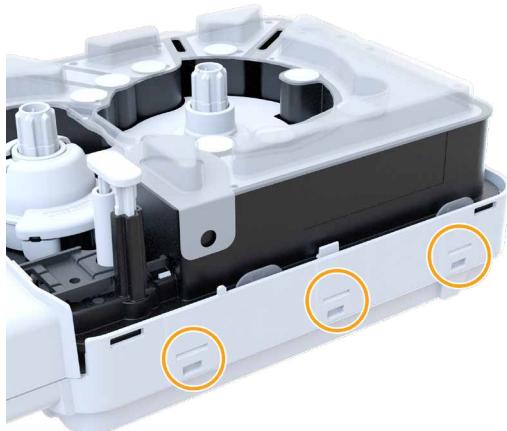
- フローセルシェルと下側アセンブリとの間にマイナスドライバーを差し込み、持ち上げます。



- フローセルシェルを下側アセンブリから引き剥がします。



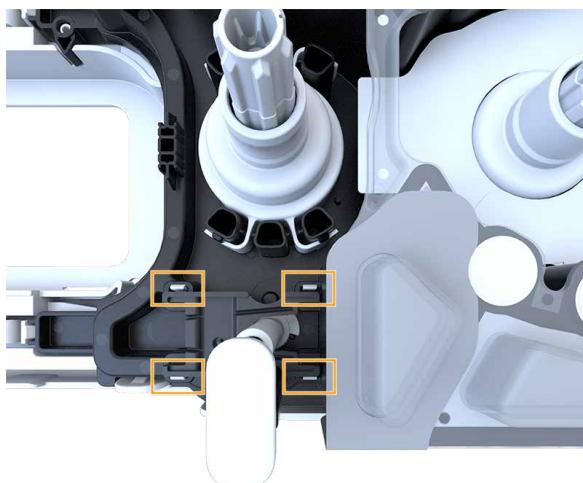
11. 試薬ウェルプレートを下側アセンブリから取り外すには、下側アセンブリの片側にある1個のスナップを外し、試薬ウェルプレートを取り外します。



12. フローセルトレイの両方のスナップを外し、フローセルトレイを取り外します。

13. 金属製のスプリングをフローセルトレイから取り外します。

14. バルブアセンブリの4個のスナップを試薬ウェルプレートの縁から離れるように押し下げて、スナップを外します。



15. バルブアセンブリの下側の面を引いてバルブアセンブリを取り外します。
16. 試薬ウェルプレートには未使用の試薬が残っている可能性があるため、各地域の適切な基準に従って試薬ウェルプレートを廃棄します。

カートリッジトレイの洗浄

カートリッジトレイの洗浄が必要なのは、カートリッジトレイに試薬が漏れ出した場合のみです。

1. カートリッジを装置から取り出します。
2. 新しいパウダーフリーの手袋をつけ、必要に応じてその他の保護具を着用します。
3. 10%の漂白溶液を布に吹き付けます。
4. 布でカートリッジトレイを拭き、すぐに丈夫なワイプで漂白溶液を拭き取ります。
すぐに拭き取らないと、カートリッジトレイに漂白剤の跡が残ります。
5. カートリッジトレイに70%エタノール溶液を吹き付け、すぐに丈夫なワイプで拭き取ります。
6. カートリッジトレイをロード位置に戻します。

スタンダードSBSのシーケンスプロトコール

このセクションでは、スタンダードSBS消耗品の準備、ライブラリーの希釈、および4種類のランモードのいずれかでシーケンスランの設定を行う手順について説明します。クラウド、ハイブリッド、およびローカルモードではDRAGENまたはBaseSpace Sequence Hubアプリを使用するのに対し、スタンドアロンモードは、CBCLデータの生成のみを目的としたカスタム解析ワークフロー専用のスタンドアロンランです。

試薬およびその他の化学薬品を取り扱うときは、保護メガネ、ラボコートおよびパウダーフリーの手袋を装着してください。

プロトコールを開始する前に必要な消耗品および機器が揃っていることを確認してください。[43ページの「消耗品および機器」](#)を参照してください。

指定の量、温度、および所要時間に従い、記載された順序でプロトコールを実施してください。

スタンダードSBSのシーケンスに関する考慮事項

プロトコールを開始する前に、以下の情報に従ってライブラリーの希釈とランのセットアップを準備します。シーケンスと解析を正しく行うには、ローディング濃度を最適にすることが重要です。リードのサイクル数を適切に入力することで、最適なデータ出力が得られます。

BaseSpace Sequence Hubでのランを計画する方法の詳細については、[BaseSpace Sequence Hubのサポートページ](#)を参照してください。

ローディング量とローディング濃度については、[「Denature and Dilute Protocol Generator」](#)を参照してください。

リードのサイクル数

各リードに対して入力するサイクル数を最小26サイクル、最大301サイクルの範囲にすると、データ品質の確保に役立ちます。適切なサイクル数は実験に応じて異なります。Read 1には少なくとも1サイクルが必要ですが、Read 1のサイクル数が26未満の場合は警告が表示されます。

Read 1、Index 1、Index 2、Read 2のサイクル数の合計は、キットでサポートされているサイクル数に38（100サイクル、200サイクル、および600サイクルのキットの場合）または27（P3の300サイクルのキットの場合）を足した数より大きくすることはできません。Index 1およびIndex 2のサイクル数が6サイクルより少ない場合は、警告が表示されます。ただし、Index 1またはIndex 2が0サイクルの場合、警告は表示されません。

最小および最大サイクル数には、余剰の1サイクルが含まれます。フェージングとプレフェージングの影響を補正するため、必ず目的のリード長に1サイクルを加えてください。リード長とは、Read 1とRead 2のシーケンスサイクル数のことです。リード長には余剰のサイクルとインデックスサイクルは含まれません。詳細については、[88ページの「Real-Time Analysisのワークフロー」](#)の「フェージングの補正」を参照してください。

ランセットアップの例：

- リード長が35（シングルリード）の場合は、[Read 1] フィールドに「**36**」と入力します。
- リード長が1リードあたり150（ペアエンド）の場合は、[Read 1] フィールドに「**151**」、[Read 2] フィールドに「**151**」と入力します。

- リード長が1リードあたり300（ペアエンド）の場合は、[Read 1] フィールドに「**301**」、[Read 2] フィールドに「**301**」と入力します。

スタンダードSBS消耗品の融解

このステップでは、温調ウォーターバス、冷蔵庫、室温のいずれかの方法を使用して、**未開封の袋**に入っているカートリッジを融解します。融解後のカートリッジは、再凍結せずに速やかに使用してください。融解したカートリッジをすぐに使用できない場合は、[107ページの「消耗品を冷蔵庫に戻す」](#)を参照してください。

- !** 破れた袋や穴が開いた袋のカートリッジをランに使用することは、シーケンスの失敗につながる可能性があるため、推奨しません。

図5 袋入りカートリッジ



温調ウォーターバスでの融解

- 新しいパウダーフリーの手袋をつけ、冷凍庫からカートリッジを取り出します。
 - 箱からカートリッジを取り出しますが、**銀色のホイルバッグ**は開けないでください。
 - 袋入りのカートリッジを25°Cの温調ウォーターバスに入れ、以下のように融解します。
 - (P1、P2、またはP3 Standard SBS Reagent Kit (100サイクル、200サイクル、または300サイクル)) 6時間かけて融解します。8時間を超えないようにしてください。
 - (P1またはP2 Standard SBS Reagent Kit (600サイクル)) 8時間かけて融解します。10時間を超えないようにしてください。
 - 融解するカートリッジの数に関係なく、水深は少なくとも9.5~10 cmに維持します。
 - 袋のラベルを上に向けてウォーターバスに入れます。水中に完全に沈めないでください。
- !** カートリッジを沈めるためにおもりを載せたりしないでください。袋のラベルが上を向いていない場合、または融解中にカートリッジが裏返しになった場合は、シーケンスデータに悪影響が及びます。

- ウォーターバスでサポートされている数を超えるカートリッジを同時に融解しないでください。
[50ページの「補助的な機器」](#)を参照してください。
 - カートリッジを重ね置きしないでください。
4. カートリッジをウォーターバスから取り出し、ペーパータオルで水分を拭き取ります。
- ### 冷蔵庫での融解
1. 予定されているランの前日に、-25°C～-15°Cの冷凍庫からカートリッジを取り出します。
 2. 新しいパウダーフリーの手袋をつきます。
 3. 箱からカートリッジを取り出しますが、**銀色のホイルバッグは開けないでください。**
 4. カートリッジを室温にさらします。その際、ラベルを上に向けて置き、側面と上部を空気が循環するようにします。
- !** | 袋のラベルを上に向けないと、シーケンスデータに悪影響が及びます。
5. 室温で6時間融解します。
 6. カートリッジを2°C～8°Cの冷蔵庫に入れます。その際、ラベルを上に向けて側面を空気が循環するようにします。
- !** | 袋のラベルを上に向けないと、シーケンスデータに悪影響が及びます。
7. 冷蔵庫で以下のように融解します。
 - (P1、P2、またはP3 Standard SBS Reagent Kit (100サイクル、200サイクル、または300サイクル)) 12時間かけて融解します。72時間を超えないようにしてください。
 - (P1またはP2 Standard SBS Reagent Kit (600サイクル)) 16時間かけて融解します。72時間を超えないようにしてください。
 8. シーケンスの前に、未開封のカートリッジを室温で15分以上放置します。
1時間を超えないようにしてください。

室温での融解

1. 新しいパウダーフリーの手袋をつきます。
 2. -25°C～-15°Cの冷凍庫からカートリッジを取り出します。
 3. 箱からカートリッジを取り出しますが、**銀色のホイルバッグは開けないでください。**
 4. ラベルを上に向けてカートリッジを置き、側面と上部を空気が循環するようにします。
- !** | 袋のラベルを上に向けないと、シーケンスデータに悪影響が及びます。
5. 室温で以下のように融解します。
 - (P1、P2、またはP3 Standard SBS Reagent Kit (100サイクル、200サイクル、または300サイクル)) 9時間かけて融解します。16時間を超えないようにしてください。
 - (P1またはP2 Standard SBS Reagent Kit (600サイクル)) 12時間かけて融解します。16時間を超えないようにしてください。

フローセルの準備

1. 2°C~8°Cの冷蔵庫から新しいフローセルを取り出します。
2. 未開封のパッケージを室温で10~15分放置し、パッケージからフローセルを取り出す際の結露を防ぎます。フローセルの温度が室温になったらフローセルの準備を行います。
3. 冷蔵庫を使用して融解した場合は、2°C~8°Cの冷蔵庫から融解したカートリッジを取り出します。

装置上でのスタンダードSBSの変性および希釀

装置上での変性と希釀については、[「Denature and Dilute Protocol Generator」](#) を参照してください。

マニュアルでのスタンダードSBSの変性および希釀

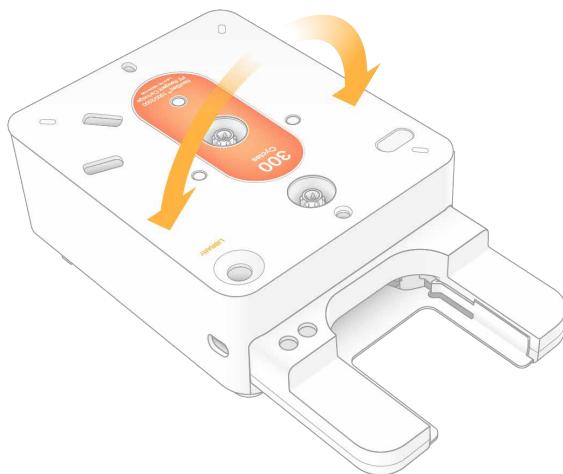
マニュアルでの変性と希釀については、[「Denature and Dilute Protocol Generator」](#) を参照してください。

スタンダードSBS消耗品のカートリッジへのロード

このステップでは、スタンダードSBSのカートリッジをシーケンスに使用する準備として、あらかじめ充填されている試薬を混ぜ合わせ、希釀済みライブラリーとフローセルをロードします。

カートリッジの準備

1. 上部の両側にある切れ込みから破いて、カートリッジの袋を開き、袋からカートリッジを取り出します。袋と乾燥剤（吸湿用の小袋）を処分します。
2. カートリッジをゆっくりと10回転倒混和し、試薬を混ぜ合わせます。
転倒中に内部コンポーネントが音を立てますが、これは正常です。



フローセルのロード

1. 上部の両側にある切れ込みから破くかはさみで切って、銀色のホイルパッケージを開きます。
フローセルをすぐに使用できない場合は、[107ページの「消耗品を冷蔵庫に戻す」](#) を参照してください。

2. フローセルをパッケージから引っ張り出します。

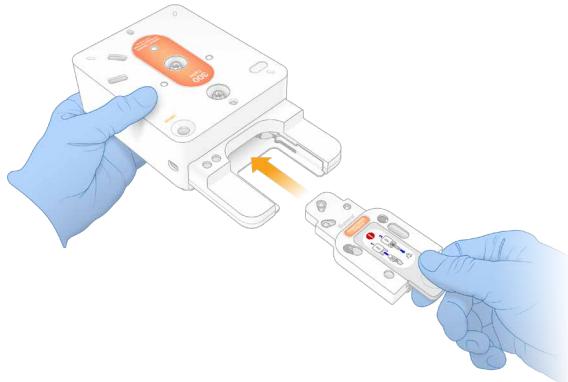
フローセルを冷蔵庫に戻す場合に備えて、ホイルパッケージと乾燥剤は取っておきます。乾燥剤はホイルパッケージの底にある小袋に入っています。シーケンスが開始されたら、パッケージと乾燥剤を処分します。



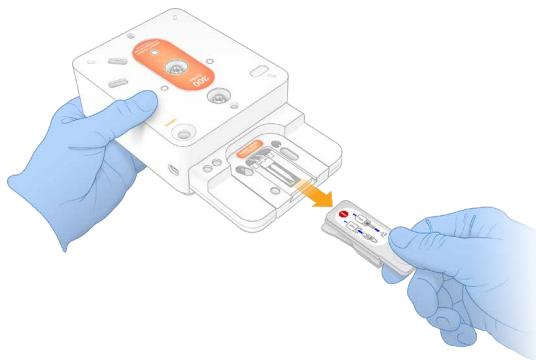
3. ラベルを上に向けてフローセルのグレーのツマミを持ちます。

4. カートリッジの前面のスロットにフローセルを押し込みます。

カチッと音がしてフローセルが固定されます。適切にロードすると、グレーのツマミがカートリッジから突き出た状態になります。



5. グレーのツマミを引っ張って取り外し、フローセルを露出させます。ツマミはリサイクルします。

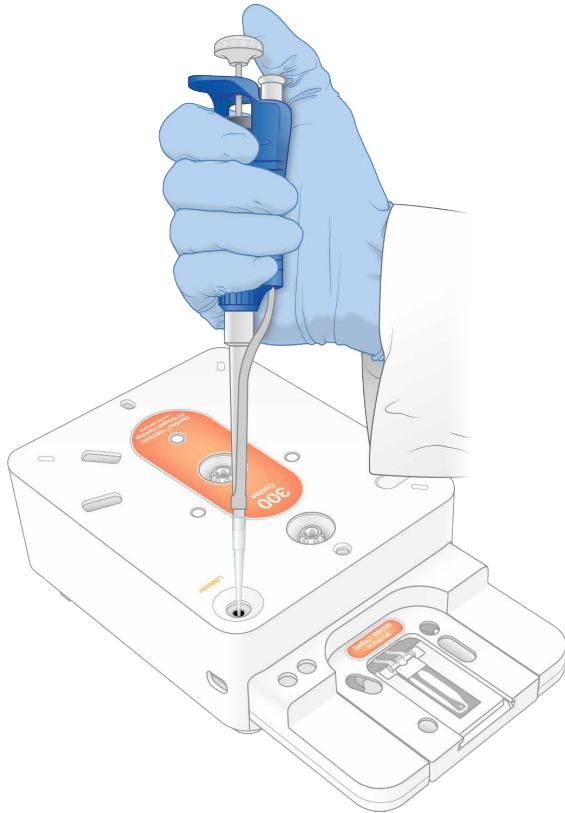


ライブラリーのロード

1. 新しい1000 μ Lのピペットチップを使用してライブラリーリザーバーに穴を開け、ホイルを端に押して穴を広げます。

2. コンタミネーションを避けるため、ピペットチップを廃棄します。

3. 希釀済みライブラリーの入ったピペットチップをリザーバーの底までゆっくりと下げ、希釀済みライブラリーをリザーバーの底に加えます。ホイルに触れないように注意してください。
- 装置上の変性および希釀プロセスを使用する場合は、20 μL の希釀済みライブラリーを加えます。
 - マニュアルでの変性および希釀プロセスを使用する場合は、200 μL の希釀済みライブラリーを加えます。



スタンダードSBSのシーケンスランの開始

このステップでは、以下の4つのモードのいずれかでスタンダードSBSのシーケンスランを開始します。

- **クラウドモード**：ランは、NextSeq 1000/2000 Control Softwareの [Planned Runs] のリストから選択されます。シーケンス中にCBCLデータがBaseSpace Sequence Hubにアップロードされます。シーケンスが完了すると、BaseSpace Sequence HubでDRAGENが自動的に開始されます。
- **ハイブリッドモード**：ランは、NextSeq 1000/2000 Control Softwareの [Planned Runs] のリストから選択されます。シーケンスが完了すると、装置上の解析が自動的に開始されます。CBCLデータとDRAGENの二次解析出力ファイルが、選択された出力フォルダーに保存されます。
- **ローカルモード**：v2ファイル形式のサンプルシートをマニュアルでNextSeq 1000/2000 Control Softwareにインポートします。シーケンスが完了すると、装置上の解析が自動的に開始されます。CBCLデータとDRAGENの二次解析出力ファイルが、選択された出力フォルダーに保存されます。
[Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、シーケンス完了後にBaseSpace Sequence Hubアプリを介して解析を開始することもできます。

- **スタンダロンモード**：ランをセットアップし、NextSeq 1000/2000 Control Softwareの手順に従ってCBCLデータを生成します。

! | プレランチェック中またはラン中にバイザーを開くと、ランが失敗する可能性があります。

! | バイザーの開閉中は、怪我をしないよう装置に手を近づけないでください。

クラウドランまたはハイブリッドランの開始

1. [35ページの「ランモードの設定」](#) の説明に従って、ランモードを設定します。
2. **[Start]** を選択します。
3. BaseSpace Sequence Hubのサインイン認証情報を入力し、**[Sign In]** を選択します。
4. **[Proactive, Run Monitoring and Storage]** を選択した場合は、BaseSpace Sequence HubのRun Planningで作成したランを含むワークグループを選択します。
- !** | 間違いを避けるため、ワークグループの選択は必須です。続行する前にワークグループを選択したことを確認してください。
5. **[Next]** を選択します。
6. ランを選択します。
7. **[Analysis]** 、 **[Run Length]** 、 **[Secondary Analysis]** のバージョンが、正しいランと一致していることを確認します。**[Analysis]** に **[Cloud_]** と表示され、解析がBaseSpace Sequence Hubで行われることを示します。
8. **[Review]** を選択します。
9. (オプション) カスタムリードプライマーとカスタムインデックスプライマーの位置を入力します。カスタムプライマーの調製と添加の詳細については、[38ページの「カスタムプライマー」](#) を参照してください。使用するライブラリー調製キットのCompatible Productsページを参照して、イルミナカスタムプライマーが必要かどうかを確認してください。
10. (オプション) カスタムレシピを選択します。詳細については、[112ページの「ダークサイクルシーケンス」](#) を参照してください。
NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3以降とIllumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kitまたはIllumina Stranded mRNA Prep Kitを使用する場合は、カスタムレシピが自動的に選択されます。
11. (オプション) ライブラリーをマニュアルで変性して希釈するには、**[Denature and Dilute On Board]** チェックボックスの選択を解除します。[72ページの「マニュアルでのスタンダードSBSの変性および希釈」](#) を参照してください。
デフォルト設定は、NextSeq 1000/2000 Control Softwareの設定に従います。
12. (オプション) 出力フォルダーを変更するには、**[Output Folder]** フィールドを選択して新しい場所を入力します。
[Output Folder] フィールドはデフォルト設定から自動入力されます。**[Proactive, Run Monitoring and Storage]** が選択されている場合を除き、出力フォルダーは必須です。
[Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、**[Save to BaseSpace Sequence Hub]** に **[Enabled]** と表示されます。
[Proactive and Run Monitoring] を選択した場合は、**[Save to BaseSpace Sequence Hub]** に **[Disabled]** と表示されます。

13. ラン情報を確認し、[Prep] を選択します。

ローカルランの開始

1. 35ページの「ランモードの設定」の説明に従って、ランモードを設定します。
 2. [Start] を選択します。
 3. [Proactive, Run Monitoring and Storage] または [Proactive and Run Monitoring] を選択した場合は、BaseSpace Sequence Hubのサインイン認証情報を入力し、[Sign In] を選択します。
 4. [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、ランを保存するBaseSpace Sequence Hubのワークグループを選択し、[Next] を選択します。

! | 間違いを避けるため、ワークグループの選択は必須です。続行する前にワークグループを選択したことを確認してください。
 5. [Start With Sample Sheet] の [Choose...] を選択し、NextSeq 1000/2000装置、ポータブルドライブ、またはマウントされたネットワークドライブにあるv2サンプルシートの場所に移動します。サンプルシートのファイル名には特殊文字を使用できません。
NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3以降では、サンプルシートからDRAGENのバージョンが自動的に検出され、必要に応じてバージョンを切り替えるように指示されます。システムには該当するバージョンのDRAGENがインストールされている必要があります。インストールについては、101ページの「ソフトウェアのアップデート」を参照してください。
 - **Run Planning Used** : 該当する場合は、サンプルシートv2とサポートファイルが入っている.zip フォルダーを選択します。そうでない場合は、サンプルシートv2を選択します。
 - **Run Planning Not Used** : 二次解析サポートファイルがサンプルシートv2と同じディレクトリにあることを確認します。

! | 選択したサンプルシートはv2形式でなければなりません。サンプルシートv2を作成するには、BaseSpace Sequence HubのRun Planningから生成済みのサンプルシートをダウンロードするか、NextSeq 1000/2000サポートページで提供されているサンプルシートv2テンプレートを編集します。サンプルシートv2の形式と要件の詳細については、オンライン上のSample Sheet v2のページを参照してください。サンプルシートで参照されているすべてのファイルがサンプルシートと同じフォルダーにあることを確認してください。
 6. [Review] を選択します。
 7. (オプション) カスタムリードプライマーとカスタムインデックスプライマーの位置を入力します。カスタムプライマーの調製と添加の詳細については、38ページの「カスタムプライマー」を参照してください。使用するライブラリー調製キットのCompatible Productsページを参照して、イルミナカスタムプライマーが必要かどうかを確認してください。
 8. (オプション) カスタムレシピを選択します。詳細については、112ページの「ダークサイクルシケンス」を参照してください。
- NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3以降とIllumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kitまたはIllumina Stranded mRNA Prep kitを使用する場合は、カスタムレシピが自動的に選択されます。

9. (オプション) ライブラリーをマニュアルで変性して希釈するには、[Denature and Dilute On Board] チェックボックスの選択を解除します。[72ページの「マニュアルでのスタンダードSBSの変性および希釈」](#) を参照してください。
デフォルト設定は、NextSeq 1000/2000 Control Softwareの設定に従います。
10. (オプション) 出力フォルダーを変更するには、[Output Folder] フィールドを選択して新しい場所を入力します。
[Output Folder] フィールドはデフォルト設定から自動入力されます。 [Proactive, Run Monitoring and Storage] が選択されている場合を除き、出力フォルダーは必須です。
[Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、[Save to BaseSpace Sequence Hub] に [Enabled] と表示されます。
[Proactive and Run Monitoring] を選択した場合は、[Save to BaseSpace Sequence Hub] に [Disabled] と表示されます。
11. ラン情報を確認し、[Prep] を選択します。

スタンドアロンランの開始

1. [35ページの「ランモードの設定」](#) の説明に従って、ランモードを設定します。
2. [Start] を選択します。
3. [Proactive, Run Monitoring and Storage] または [Proactive and Run Monitoring] を選択した場合は、BaseSpace Sequence Hubのサインイン認証情報を入力し、[Sign In] を選択します。
4. [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、ランを保存するBaseSpace Sequence Hubのワークグループを選択し、[Next] を選択します。
5. [Set Up New Run] を選択します。
6. [Run Name] フィールドに、セットアップするランを識別するための固有の名前を入力します。
ラン名には、英数字、ダッシュ、ハイフン、アンダースコアを使用できます。
7. [Read Type] で、実行するシーケンスリードの回数を選択します。
 - **Single Read** : 1リードのみを実行します。これは簡便性と速度を重視したオプションです。
 - **Paired End** : リードを2回実行します。2回のリードを統合することで、高品質なデータが得られ、アライメントの精度が向上します。
8. 各リードで実行するサイクル数を入力します。
インデックスサイクル数に上限はありませんが、リードサイクルとインデックスサイクルの合計数を、カートリッジラベルに記載されているサイクル数に38（NextSeq 1000/2000 P3 Reagents kitの300サイクルのカートリッジを使用する場合は27）を足した数より小さくする必要があります。[46ページの「サポートされるサイクル数」](#) を参照してください。

Read 1 : 1~301のサイクル数を入力します。

Index 1 : インデックス1 (i7) プライマーのサイクル数を入力します。PhiXのみのランの場合は、両方のインデックスフィールドに「0」と入力します。

Index 2 : インデックス2 (i5) プライマーのサイクル数を入力します。

Read 2 : 301サイクルまでの値を入力します。この値は通常、[Read 1] の値と同じです。

9. [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合、[Choose...] を選択してサンプルシートをインポートします。NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3以降では、サンプルシートからDRAGENのバージョンが自動的に検出され、必要に応じてバージョンを切り替えるように指示されます。システムには該当するバージョンのDRAGENがインストールされている必要があります。インストールについては、[101ページの「ソフトウェアのアップデート」](#) を参照してください。

i | 選択したサンプルシートはv2形式でなければなりません。サンプルシートv2を作成するには、BaseSpace Sequence HubのRun Planningから生成済みのサンプルシートをダウンロードするか、NextSeq 1000/2000サポートページで提供されているサンプルシートv2テンプレートを編集します。サンプルシートv2の形式と要件の詳細については、[オンライン上のSample Sheet v2のページ](#)を参照してください。サンプルシートで参照されているすべてのファイルがサンプルシートと同じフォルダーにあることを確認してください。

10. (オプション) カスタムリードプライマーとカスタムインデックスプライマーの位置を入力します。カスタムプライマーの調製と添加の詳細については、[38ページの「カスタムプライマー」](#) を参照してください。使用するライブラリー調製キットのCompatible Productsページを参照して、イルミナカスタムプライマーが必要かどうかを確認してください。

11. (オプション) カスタムレシピを選択します。詳細については、[112ページの「ダークサイクルシーケンス」](#) を参照してください。

12. (オプション) ライブラリーをマニュアルで変性して希釈するには、[Denature and Dilute On Board] チェックボックスの選択を解除します。[72ページの「マニュアルでのスタンダードSBSの変性および希釈」](#) を参照してください。

デフォルト設定は、NextSeq 1000/2000 Control Softwareの設定に従います。

13. (オプション) 出力フォルダーを変更するには、[Output Folder] フィールドを選択して新しい場所を入力します。
[Output Folder] フィールドはデフォルト設定から自動入力されます。[Proactive, Run Monitoring and Storage] が選択されている場合を除き、出力フォルダーは必須です。

14. [Prep] を選択します。

消耗品を装置にロード

- (グレーのツマミを取り外した) フローセルと希釈済みライブラリーをロードする前に、カートリッジがすでに融解していて、10回転倒混和されていることを確認します。
- [Load] を選択します。
バイザーが開いてトレイが排出されます。

3. カートリッジをトレイに載せます。その際、ラベルを上に向け、フローセルが装置の中に入るようになります。カートリッジを押し込んで固定します。



4. [Close] を選択します。カートリッジが格納されてバイザーが閉まります。
約3分後、スキャンされた消耗品の情報が表示されます。
5. (オプション) [Eject Cartridge] を選択し、カートリッジを取り出します。
1分後にバイザーが開き、カートリッジが排出されます。
6. [Sequence] を選択します。

プレランチェック

プレランチェックでは、装置チェックの後にフルイディクスチェックが行われます。フルイディクスチェック中にカートリッジのシールに穴が開けられます。このとき、ポンという音が3~4回装置から聞こえますが、この音は正常です。これで試薬がフローセルを通過できるようになります。

! フルイディクスチェックが開始された後、消耗品は再利用できません。

1. プレランチェックが完了するまで15分ほど待ちます。
正常に完了すると、ランが自動的に開始します。
2. 装置チェック中にエラーが発生した場合は、[Retry] を選択してチェックをやり直します。
チェックが進行している間、現在のチェック項目を示す円が表示されます。
3. 繰り返し発生するエラーのトラブルシューティングを行うには、107ページの「エラーメッセージの解消」を参照してください。

ランの進捗状況のモニタリング

1. [Sequencing] 画面に表示されるランの進捗状況とメトリクスをモニタリングします。
 - **Estimated run completion** : ランが完了する予想日時。Estimated run completionメトリクスでランの完了日時を正確に計算するには、既にランを10回実行している必要があります。
 - **Average %Q30** : Qスコアが30以上であるベースコードの平均比率。
 - **Projected Yield** : そのランでコードされる塩基の予想数。

- **Total Reads PF** : フィルターを通過したペアエンド（該当する場合）クラスターの数（百万単位）。
 - **Real Time Demux** : Read 1、Index 1、Index 2のサイクルが完了した後、Read 2の開始時に行われるデマルチプレックスのステータス。インデックスサイクルが実行されていない場合でも、ステータスは [Complete] と表示されます。クラウドモードのランでは使用できません。
 - **Real Time Alignment** : Read 1、Index 1、Index 2のサイクルが完了した後、Read 2の開始時に行われるRead 1のアライメントのステータス。クラウドモードのランでは使用できません。
- Q30 と Yield のメトリクスは、26 サイクル以降に表示されます。
2. ランのプロセスをモニタリングするには、Control Softwareのメニューから **[Process Management]** を選択します。
 3. ランを取り消すには、**[End Run]** を選択します。ランの取り消しの詳細については、108ページの「ランの取り消し」を参照してください。
 4. 装置から消耗品を取り出します。カートリッジは3日以内に装置から取り出してください。

スタンダードSBSのポストラン作業の実施

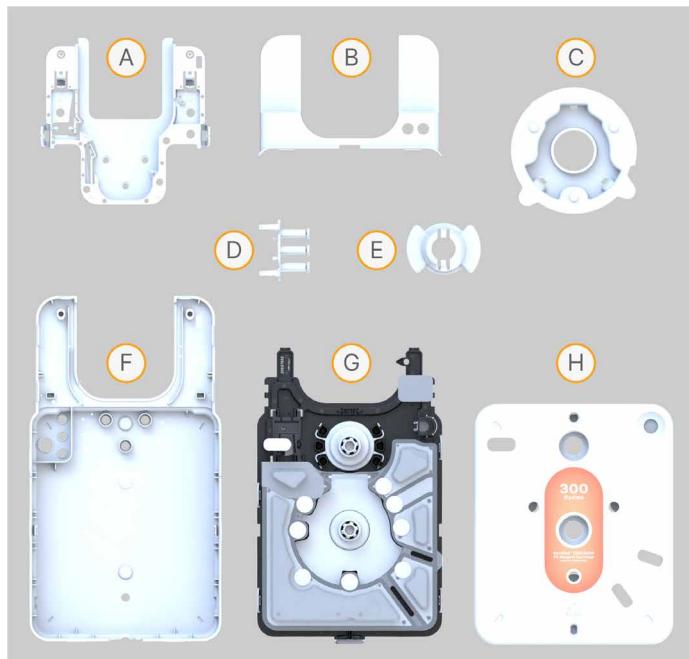
消耗品の取り出し

1. シーケンスが完了したら、**[Eject Cartridge]** を選択します。
使用済みのカートリッジが装置から排出されます。
 2. トレイからカートリッジを取り出します。
 3. フローセルをカートリッジから取り出します。
 4. フローセルには電子部品が含まれています。各地域の適切な基準に従って、フローセルを廃棄します。
 5. (オプション) 適切なエリア（シンクまたは有害液体用廃棄容器）の上でカートリッジ側面のイルミナロゴの下にある排液プラグを外します。その際、プラグを水平または下に向けて自分の顔から離れるようにしてください。各地域の適切な基準に従って、使用済みの試薬を排液します。自動試薬ページを有効にしていない場合、排液にかかる時間はカートリッジのサイズによって異なります。
- !** | この試薬一式には有害な可能性のある化学物質が含まれます。吸引、嚥下、皮膚への接触、目への接触により身体傷害を生じる危険があります。試薬内の有害物質に対処するため、適切に換気してください。曝露リスクに適したゴーグル、手袋、実験着などの保護具を着用してください。使用済み試薬は化学廃棄物として取り扱い、各地域、国、および現地の適用法に従って廃棄してください。環境、健康、および安全に関する詳細な情報については、jp.support.illumina.com/sds.htmlに掲載されているSDSを参照してください。
6. カートリッジシェルはリサイクルし、試薬カートリッジは廃棄します。詳細については、81ページの「カートリッジのコンポーネントのリサイクル」を参照してください。
 7. 試薬カートリッジを廃棄します。
フルイディクスコンポーネントはカートリッジとともに廃棄されるため、ポストランウォッシュは必要ありません。
 8. **[Close Door]** を選択し、トレイを再ロードして **[Home]** 画面に戻ります。
トレイが自動的に再ロードされ、センサーによってカートリッジの取り出しが確認されます。

カートリッジのコンポーネントのリサイクル

カートリッジに使用されているプラスチックは、各地域の固体廃棄物リサイクルガイドラインに従ってリサイクルできる場合があります。各地域の固体廃棄物リサイクル業者に問い合わせるか、自治体が指定するリサイクル手順を確認してください。

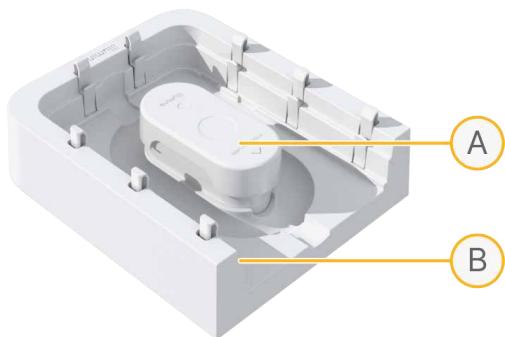
以下にカートリッジのコンポーネントを示します。試薬ウェルプレートとフローセルはリサイクルできません。



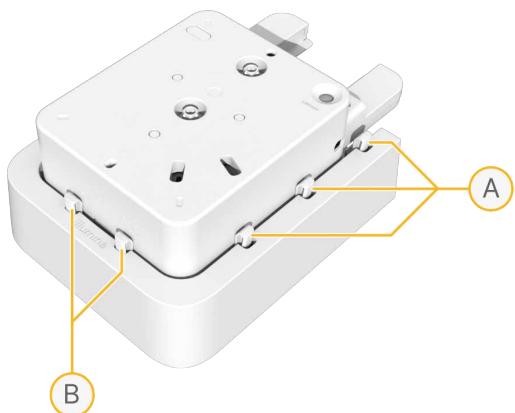
- A. フローセルトレイ
- B. フローセルシェル
- C. ピアッサー
- D. バルブアセンブリ
- E. ローターバルブカバー
- F. 底面シェル
- G. 試薬ウェルプレート
- H. 上面シェル

カートリッジシェルは以下のようにリサイクルします。

1. カートリッジから排液されていることを確認します。
2. パンチツールを固定具から取り外します。

**A.** パンチツール**B.** 固定具

3. 固定具の幅が広いほうの端部をベンチトップと平行になるように配置します。
4. 固定具のツメの上にカートリッジを置きます。カートリッジを下に押す必要はありません。

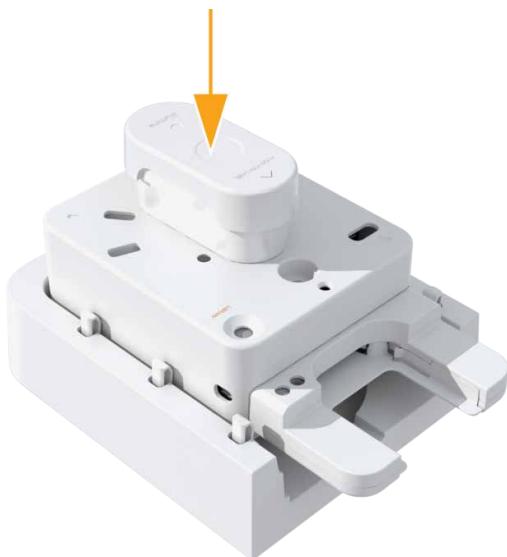
**A.** ツメ**B.** 後方のツメ

5. カートリッジの位置を後方の2個のツメに合わせます。
6. パンチツールの位置をカートリッジ上面にあるラベルに合わせます。

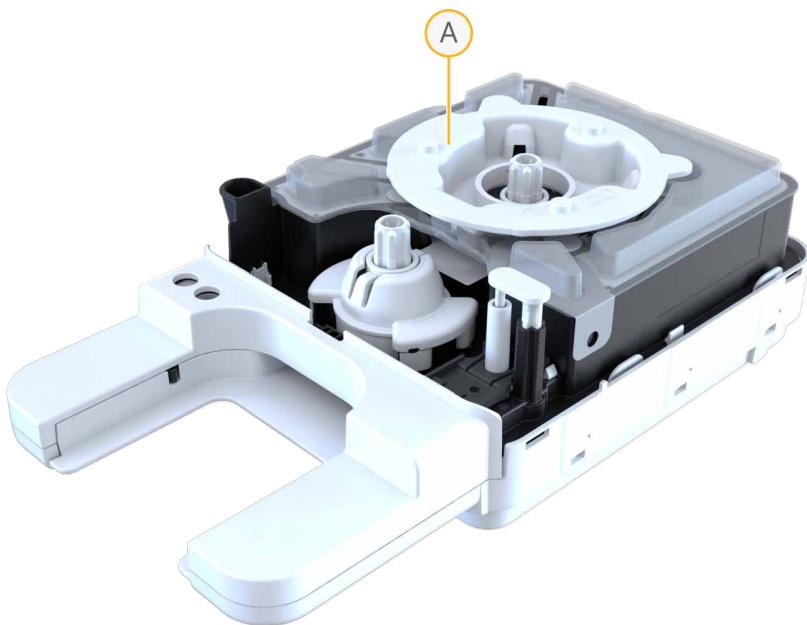


7. パンチツールを強い力ですばやく下に押して、カートリッジシェルを分離します。

カートリッジシェルにかける力が不十分な場合、シェルが完全に分離されないことがあります。カートリッジシェルが部分的にしか分離されなかった場合、カートリッジを固定具から取り外し、シェルを閉じてから、パンチツールでもう少し強い力をかけます。

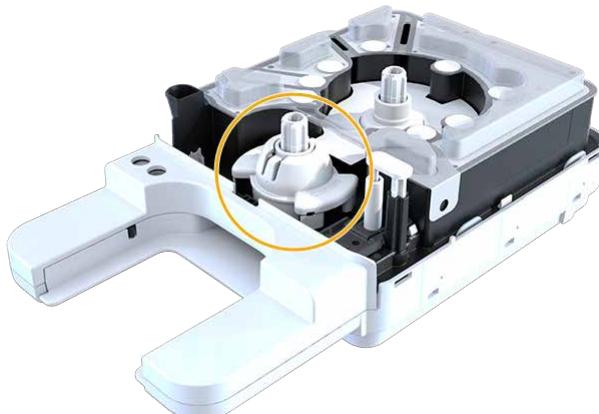


8. カートリッジからピアッサーを取り外します。



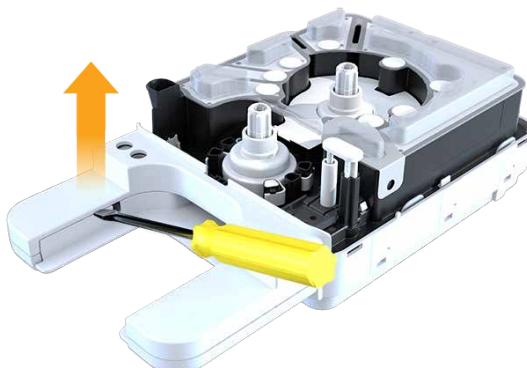
A. ピアッサー

9. ローターバルブアセンブリの前方からカバーを取り外します。



10. フローセルシェルを取り外すには、次のいずれかの方法を使用します。

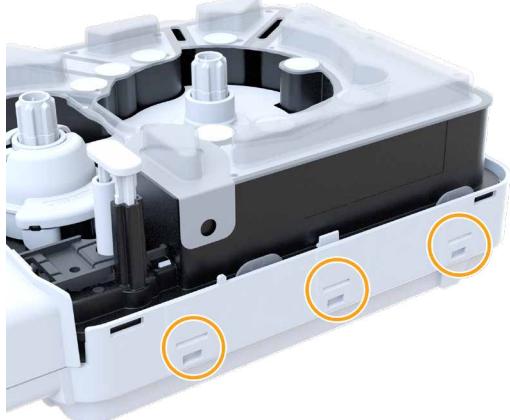
- フローセルシェルと下側アセンブリとの間にマイナスドライバーを差し込み、持ち上げます。



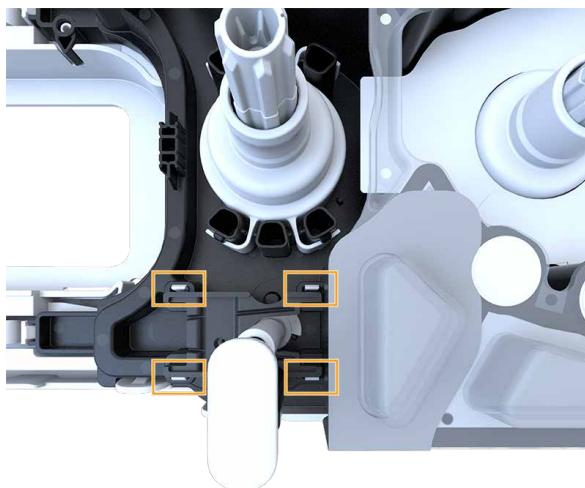
- フローセルシェルを下側アセンブリから引き剥がします。



11. 試薬ウェルプレートを下側アセンブリから取り外すには、下側アセンブリの片側にある1個のスナップを外し、試薬ウェルプレートを取り外します。



12. フローセルトレイの両方のスナップを外し、フローセルトレイを取り外します。
 13. 金属製のスプリングをフローセルトレイから取り外します。
 14. バルブアセンブリの4個のスナップを試薬ウェルプレートの縁から離れるように押し下げて、スナップを外します。



15. バルブアセンブリの下側の面を引いてバルブアセンブリを取り外します。
 16. 試薬ウェルプレートには未使用の試薬が残っている可能性があるため、各地域の適切な基準に従って試薬ウェルプレートを廃棄します。

カートリッジトレイの洗浄

カートリッジトレイの洗浄が必要なのは、カートリッジトレイに試薬が漏れ出した場合のみです。

1. カートリッジを装置から取り出します。
2. 新しいパウダーフリーの手袋をつけ、必要に応じてその他の保護具を着用します。
3. 10%の漂白溶液を布に吹き付けます。
4. 布でカートリッジトレイを拭き、すぐに丈夫なワイプで漂白溶液を拭き取ります。
すぐに拭き取らないと、カートリッジトレイに漂白剤の跡が残ります。
5. カートリッジトレイに70%エタノール溶液を吹き付け、すぐに丈夫なワイプで拭き取ります。
6. カートリッジトレイをロード位置に戻します。

シーケンスの出力

このセクションでは、Real-Time Analysisソフトウェアについて説明します。このソフトウェアは、ベースコーリングを行い、クオリティスコアを割り当て、データを出力します。また、さまざまな出力ファイルタイプと、ラン後にそれらが保存される場所についても説明します。

Real-Time Analysisの概要

NextSeq 1000/2000システムでは、Real-Time Analysis (RTA) ソフトウェアが装置の演算エンジン (CE) で実行されます。RTAはカメラから取得したイメージのシグナル強度を抽出し、ベースコーリングを行い、コールされた塩基にクオリティスコアを割り当てます。さらに、PhiXにアライメントし、装置コントロールソフトウェアで参照できるようにInterOpファイルでデータを報告します。

処理時間を最適化するために、RTAはメモリーに情報を格納します。RTAが中断された場合、データ処理は再開されず、メモリー内で処理中のランデータはすべて失われます。

RTAへの入力

RTAは、ローカルシステムメモリー内のタイルイメージを使用して処理を行います。RTAは、ラン情報と処理コマンドをControl Softwareから受け取ります。

RTAからの出力

各色チャネルのイメージは、タイルとしてRTAにメモリー内に渡されます。これらのイメージから、RTAはクオリティスコア付きのベースコールのファイルとフィルターファイルのセットを出力します。他のすべてのファイルは出力ファイルを補助するものです。

ファイルタイプ	内容説明
ベースコールファイル	各タイルの解析結果は、連結ベースコール (*.cbcl) ファイルに含まれます。同一レーンかつ同一面のタイルが、レーンおよび面ごとに1つの *.cbcl ファイルに集約されます。
フィルターファイル	クラスターがフィルターをパスしたかどうかを規定するフィルターファイル (*.filter) がタイルごとに生成されます。
クラスターロケーションファイル	クラスターロケーション (*.locs) ファイルには、1つのタイル上の全クラスターのX、Y座標が記録されています。クラスターロケーションファイルはランごとに生成されます。

出力ファイルはDRAGENおよびBaseSpace Sequence Hubでの下流の解析に使用されます。

エラー処理

RTAはログファイルを生成し、それをLogsフォルダーに書き込みます。エラーは*.logファイル形式のテキストファイルに記録されます。

以下のログファイルが、処理の終了時に最終出力先に転送されます。

`info_00000.log`には、重要なランイベントの要約が含まれます。

`error_00000.log`には、ラン中に発生したエラーの一覧が含まれます。

`warning_00000.log`には、ラン中に発生した警告の一覧が含まれます。

フローセルタイル

タイルはフローセル上の小さなイメージングエリアです。カメラはタイルごとに1つのイメージを取得します。

フローセル	レーン	面	レーンあたりのスワス	スワスあたりのタイル数	生成される総タイル数
P1フローセル	1	2	4	4	32
P2フローセル (100サイクル、200サイクル、300サイクルキット)	1	2	6	11	132
P2 XLEAP-SBS フローセル (600サイクルキット)	1	2	4	14	112
P2 スタンダードSBS フローセル (600サイクルキット)	1	2	4	12	96
P3フローセル	2	2	6	14	336
P4フローセル	2	2	6	16	384

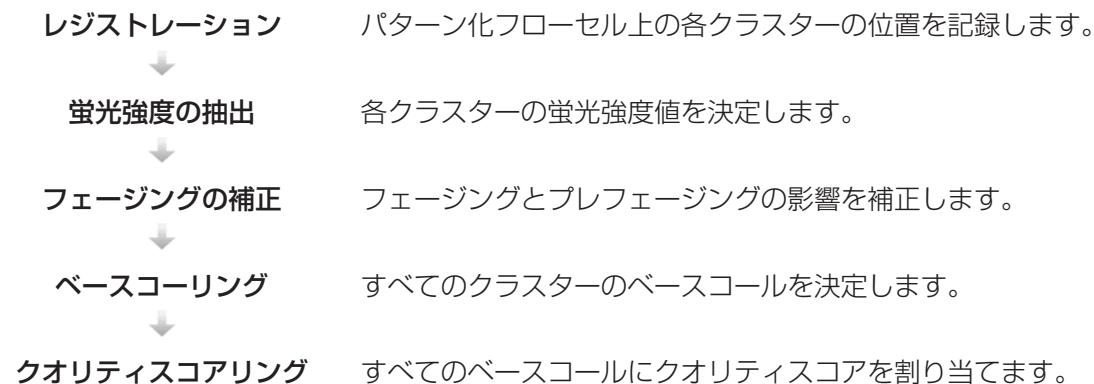
内容説明

- **レーン**：レーンは、光学的には区別されますが、送液的には繋がった流路です。
- **面**：フローセルは2つの面（上面と底面）でイメージングされます。タイルの上面がまずイメージングされます。
- **レーンあたりのスワス**：スワスはフローセルレーン内の列です。
- **スワスあたりのタイル数**：タイルはスワスの一部であり、フローセル上のイメージングされるエリアを表します。
- **生成される総タイル数**：レーン × 面 × スワス × スワスあたりのタイル数 = 総タイル数になります。

タイルの命名規則

- タイル名は、フローセル上のタイル位置を表す4桁の番号です。例えば、タイル名1205は「上面、スワス2、タイル05」を示します。
- 最初の桁は面を表します。上面が1、底面が2です。
- 2桁目はスワス番号を表し、1、2、3、4、5、6のいずれかになります。
- 最後の2桁はタイル番号を表します。

Real-Time Analysisのワークフロー



クオリティスコア

クオリティスコア（Qスコア）は不正確なベースコールの確度の予測値です。高いQスコアは、ベースコールのクオリティが高く、正しい可能性が高いことを示しています。Qスコアを決定した後、ベースコール (*.cbcl) ファイルに結果が記録されます。

Qスコアは、エラーの確率がどれだけ小さいかを簡潔に伝える指標です。クオリティスコアはQ(X)として表されます（Xはスコア）。次の表に、クオリティスコアとエラーの確率の関連性を示します。

Qスコア (Q(X))	エラーの確率
Q40	0.0001 (10,000分の1)
Q30	0.001 (1,000分の1)
Q20	0.01 (100分の1)
Q10	0.1 (10分の1)

クオリティスコアリングおよびレポーティング

クオリティスコアリングは、ベースコールごとにいくつかの予測因子を計算し、その値を基にクオリティテーブルを参照してQスコアを割り当てます。クオリティテーブルは、特定のシーケンシングシステム構成とケミストリーバージョンの組み合わせから作成されたランに対して調整されたクオリティの予測値を与えるように作られています。

i | クオリティスコアリングは、Phredアルゴリズムの修正版に基づいています。

NextSeq 1000/2000システムのQテーブルを作成するにあたり、特定の予測的特徴のクラスタリングに基づいて、3つのベースコールグループを決定しました。ベースコールをグループ化した後、3つのグループそれぞれの平均エラー率を経験的に計算し、対応するQスコアを、そのグループに関連する予測的特徴とともにQテーブルに記録しました。そのため、RTAでは、3つのQスコアのみが可能であり、これらのQスコアはグループの平均エラー率を示します。このプロセスの結果、全体的に見て、簡素でありながら精度の高いクオリティスコアリングになっています。カートリッジ上のRFIDで、使用するRTAのバージョンが特定されます。

Qテーブル	ベースコールグループ	割り当てられた 特定のスコア	使用するRTA バージョン
XLEAP-SBSカートリッジ (50、100、200、300、 600サイクル)	最低限 (Q17以下) 、中程度 (Q18 ～29) 、高品質 (Q30以上)	それぞれ12、 24、40	RTA4
スタンダードSBSのカート リッジ (50、100、200、 300サイクル)	最低限 (Q17以下) 、中程度 (Q18 ～29) 、高品質 (Q30以上)	それぞれ12、 26、34	RTA3
スタンダードSBSのカート リッジ (600サイクル)	最低限 (Q17以下) 、中程度 (Q18 ～29) 、高品質 (Q30以上)	それぞれ9、 20、34	RTA3

また、ノーコールには0という無効なスコアが割り当てられます。このQスコアのレポーティングモデルにより、正確さやパフォーマンスに影響を与えずに、必要なストレージ容量と帯域幅が削減されました。

シーケンス出力ファイル

ファイルタイプ	ファイルの説明、場所、名前
連結ベースコール ファイル	解析された各クラスターは、サイクル、レーン、および面ごとに1つのファイルに集約された連結ベースコールファイルに記録されます。この集約されたファイルには、各クラスターの連結ベースコールとエンコードされたクオリティスコアが含まれます。連結ベースコールファイルは、BaseSpace Sequence Hubまたはbcl2fastq2によって使用されます。 Data/Intensities/BaseCalls/L001/C1.1 l_[lane]_[surface].cbc1 (例：l001_1.cbc1)
クラスターロケー ションファイル	フローセルごとに作成されるバイナリー形式のクラスターロケーションファイルには、タイル内のクラスターのXY座標が含まれます。フローセルのナノウェルレイアウトと一致するひし形または六角形のレイアウトにより、座標はあらかじめ定められています。 Data/Intensities s_[lane].locs
フィルターファイル	フィルターファイルは、クラスターがフィルターを通過したかどうかを示します。サイクル26の時点で、25サイクルまでのデータを使用してフィルターファイルが作成されます。タイルごとに1つのフィルターファイルが生成されます。 Data/Intensities/BaseCalls/L001 s_[lane]_[tile].filter
InterOpファイル群	このバイナリー形式のレポートファイルは、装置上では装置コントロールソフトウェアを使用して、装置外ではSAVまたはBaseSpace Sequence Hubを使用して表示できます。 InterOpファイルはラン全体を通じて更新されます。 InterOpフォルダー

ファイルタイプ	ファイルの説明、場所、名前
RunInfoファイル	ラン名、各リードのサイクル数、リードがインデックスリードであるかどうか、フローセル上のスワスとタイルの番号の一覧が含まれます。RunInfoファイルは、ランの開始時に生成されます。 [Root folder], RunInfo.xml

DRAGENによる二次解析の出力ファイル

DRAGEN Bio-IT Platformは、以下のいずれかの解析パイプラインを使用して、シーケンス出力を装置上でさらに解析します。

- BCL Convert
- Germline
- RNA
- Enrichment
- Single Cell RNA
- DNA Amplicon

このセクションでは、出力ファイルの情報など、DRAGENの各パイプラインについて説明します。

DRAGENは、各パイプラインに固有のファイルを生成するだけでなく、解析から得られたメトリクスを <sample_name>.metrics.json ファイルおよび [94ページの「DRAGEN BCL Convertパイプライン」](#) に示すレポートで提供します。DRAGENの詳細については、[DRAGEN Bio-IT Platformのサポートサイトのページ](#) を参照してください。

すべてのDRAGENパイプラインは、入力BCLファイルの解凍と出力BAM/CRAMファイルの圧縮をサポートしています。

また、FASTQ.oraファイルの生成とDRAGEN Original Read Archive (ORA) 圧縮も、すべてのDRAGENパイプラインでサポートされています。ORA圧縮を使用すると、FASTQファイルのサイズが最大5分の1に縮小されます。詳細については、[イルミナサポートサイト](#) を参照してください。

出力ファイルに関する考慮事項：

- Germline、RNA、Enrichment、およびDNA Ampliconパイプラインを使用して装置上の解析を実行する場合、 [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択していても、BAMファイルは BaseSpace Sequence Hubにアップロードされません。

DRAGEN Enrichmentパイプライン

DRAGEN Enrichmentパイプラインは、以下の機能をサポートします。DRAGEN 3.7以降を使用する場合、生殖細胞モードと体細胞（腫瘍のみ）モードの両方がサポートされます。

- サンプルのデマルチプレックス
- マッピングとアライメント（ソートと重複マーキングを含む）
- スマールバリエントコール
- 構造バリエントコール
- コピー数バリエントコール（バージョン3.10以降）

バリエントコーリングを実行するには、*.bedファイルをサンプルシートに含めるか、BaseSpace Sequence HubのRun Planningで指定する必要があります。構造多型コールは、ペアエンドリードおよび生殖細胞モードの場合にのみ生成されます。

DRAGEN Enrichmentバージョン3.8以降を使用する場合、ノイズベースラインファイルを入力して体細胞モードでの性能を改善できます。[32ページの「ノイズベースラインファイルのインポート」](#)を参照してください。

コピー数バリエント（CNV）コールを使用する場合は、パネルオブノーマルズファイルを提供する必要があります。[34ページの「CNVコーリング用のパネルオブノーマルズファイルのインポート」](#)を参照してください。

このパイプラインは、以下の出力ファイルを生成します。

コンポーネント	タイプ	出力ファイル名
マッピング/アライニング	BAMまたはCRAM	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.bam、または <sample_name>.cram
スマールバリエントコール	VCFおよびgVCF*	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz
構造バリエントコール	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.sv.vcf.gz
コピー数バリエントコール	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.cnv.vcf.gz

* gVCF出力ファイルを使用できるのは、生殖細胞モードの場合のみです。

DRAGEN Germlineパイプライン

DRAGEN Germlineパイプラインは、以下の機能をサポートします。

- スマールバリエントコール
- ペアエンドリード用構造バリエントコール
- ヒトゲノム用コピー数バリエントコール
- ヒトゲノム用リピート伸長
- ヒトゲノム用ホモ接合性領域
- (DRAGEN v3.8以降) CYP2D6の検出

構造バリエントコールは、ペアエンドリードの場合にのみ生成されます。

このパイプラインは、以下の出力ファイルを生成します。

コンポーネント	タイプ	出力ファイル名
マッピング/アライニング	BAMまたはCRAM	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.bam、または <sample_name>.cram
スモールバリアントコール	VCFおよびgVCF	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz
構造バリアントコーラー	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.sv.vcf.gz
コピー数バリアントコーラー	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.cnv.vcf.gz
リピート伸長	VCF	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.repeats.vcf.gz
ホモ接合性領域	CSVおよびBED	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.roh_metrics.csv <sample_name>.roh.bed
CYP2D6の検出	TSV	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.cyp2d6.tsv

DRAGEN DNA Ampliconパイプライン

DRAGENパイプラインは、以下の機能をサポートします。

- 生殖細胞モードまたは体細胞モードでのスモールバリアントコール

バリアントコーリングを実行するには、*.bedファイルをサンプルシートに含めるか、BaseSpace Sequence HubのRun Planningで指定する必要があります。

このパイプラインは、以下の出力ファイルを生成します。

コンポーネント	タイプ	出力ファイル名
マッピング/アライニング	BAMまたはCRAM	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.bam、または <sample_name>.cram
スモールバリアントコール	VCFおよびgVCF*	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz

* gVCF出力ファイルを使用できるのは、生殖細胞モードの場合のみです。

DRAGEN RNAパイプライン

DRAGEN RNAパイプラインは、以下の機能をサポートします。

- 遺伝子融合検出
- 転写因子の定量
- (DRAGEN v3.8以降) 遺伝子発現差解析

出力ファイルを生成するには、サンプルシートにGTFファイルを指定するか、既定のgenes.gtf.gzとリファレンスゲノムが存在することを確認します。

このパイプラインは、以下の出力ファイルを生成します。

コンポーネント	タイプ	出力ファイル名	内容説明
マッピング/アライニング	BAMまたはCRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.bam、または • <sample_name>.cram 	SAM仕様を満たすアライメント出力。
遺伝子融合検出	プレーンテキスト	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.fusion_candidates.preliminary • <sample_name>.fusion_candidates.final 	<ul style="list-style-type: none"> • フィルターが適用される前の融合候補。 • フィルターが適用された後の融合候補。
転写因子の定量	プレーンテキスト	<ul style="list-style-type: none"> • sample_name.quant.genes.sf • sample_name.quant.sf 	<ul style="list-style-type: none"> • 遺伝子レベルでの転写因子の定量結果。 • すべての転写因子の定量結果。
発現差異	PNG	発現差異の出力ファイルに関する下記の表を参照してください。	出力ファイルを生成するには、サンプルシートに比較対象が設定されている必要があります。

発現差解析が有効になっている場合、以下のファイルが出力されます。

ファイル名	内容説明
Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv	発現差解析メトリクスが含まれます。
Control_vs_Comparison.genes.counts.csv	コントロールグループと比較グループのサンプルごとに、各遺伝子にマップされたリードの数が記載されます。
Control_vs_Comparison.genes.heatmap.png	コントロールグループと比較グループのサンプルについて、発現差のある遺伝子の発現を表すヒートマップです。このヒートマップには、調整されたp値が-0.05未満である、発現差のある遺伝子のみが示されます。発現差のある遺伝子の数が30を超える場合、上位30位までの発現差のある遺伝子のみが使用されます。DESeq1が収束に失敗した場合、または発現差のある遺伝子が存在しない場合、ファイルは生成されません。

ファイル名	内容説明
Control_vs_Comparison.genes.ma.png	遺伝子発現比のばらつきが平均シグナル強度の関数として示されます。2つのサンプルの測定値の差を示すために、データがM（ログ比率）スケールとA（平均）スケールに変換され、値がプロットされます。MAプロットでは、すべてのサンプルについて、ノーマライズされたカウントの平均に対する特定の変数に起因するlog2倍率変化が示されます。調整されたp値が0.1未満の場合、点は赤色です。ウィンドウの範囲外の点は、白三角でプロットされます。 上向き三角は、正の対数倍率変化を表します。下向き三角は、負の対数倍率変化を表します。
Control_vs_Comparison.genes.pca.png	最も大きい差異を説明する、最初の2つの主要要素を示すプロットです。
Control_vs_Comparison.genes.res.csv	DESeq2の結果が含まれます。この結果では、発現量の平均値、log2（倍率変化）、log2の標準誤差、p値、調整されたp値、各遺伝子の発現状態が示されます。
Control_vs_Comparison.genes.rlog.csv	DESeq2により計算された、正規化された対数変換カウントが含まれます。

DRAGEN Single Cell RNAパイプライン

DRAGEN Single Cell RNAパイプラインは、以下の機能をサポートします。

- 細胞および遺伝子の分類

出力ファイルを生成するには、サンプルシートにGTFファイルを指定するか、既定のgenes.gtf.gzとリファレンスゲノムが存在することを確認します。

このパイプラインは、以下の出力ファイルを生成します。

コンポーネント	タイプ	出力ファイル名
マッピング/アライニング	BAMまたはCRAM	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.bam、または <sample_name>.cram
細胞/遺伝子分類	TSV、CSV、MTX	<ul style="list-style-type: none"> <sample_name>.scRNA.barcodeSummary.tsv <sample_name>.scRNA.genes.tsv <sample_name>.scRNA.matrix mtx
解析レポート	HTML	<sample_name>.dragen.scrna-report.*.html

DRAGEN BCL Convertパイプライン

DRAGEN BCL Convertパイプラインは、シーケンスランで生成されたBCLデータとサンプルシートの情報を使用して、各サンプルのFASTQファイルを出力します。FASTQファイル名は<sample_name>.fastq.gzです。

このパイプラインは、以下のレポートを生成します。

コンポーネント	タイプ	出力ファイル名
デマルチプレックス	CSV	• Demultiplex_Stats.csv
アダプターメトリクス	CSV	• Adapter_Metrics.csv
インデックスホッピング	CSV	• Index_Hopping_Counts.csv
上位の不明なバーコード	CSV	• Top_Unknown_Barcodes.csv

デマルチプレックス統計レポート

デマルチプレックス統計レポートには、サンプルシート内の各サンプルに割り当てられたパスフィルターリード数に関する情報が含まれています。サンプルと明確に関連付けられていないリードは、「undetermined」と分類されます。また、各サンプルに割り当てられたパスフィルター (PF) リード内の塩基のクオリティスコアに関する情報も含まれます。

このレポートには以下の情報が含まれます。

メトリクス	内容説明
Lane	サンプルをシーケンスしたフローセルのレーン。
SampleID	サンプルシートから取得されたサンプルID。リードがどのサンプルにも対応しない場合、このフィールドには「undetermined」と表示されます。
Index	サンプルシートのIndex Read 1とIndex Read 2をハイフンで区切って連結したもの。リードがどのサンプルにも対応しない場合、このフィールドには「undetermined」と表示されます。
# Reads	指定したレーンのサンプルに対してデマルチプレックスされたPFリードの数。
# Perfect Index Reads	サンプルシートに指定されているインデックス配列の組み合わせに完全に一致するリードの数。
# One Mismatch Index Reads	サンプルシートに指定されているインデックス配列の組み合わせにおいてエラーが1つのリードの数。
# of ≥ Q30 Bases (PF)	Q30クオリティ閾値を超えるリードに対応する塩基（アダプターを含む）の数。
Mean Quality Score (PF)	指定したレーンのサンプルに対応するリードの平均クオリティスコア。この値にはアダプター塩基が含まれます。

アダプターメトリクスレポート

アダプターメトリクスファイルには、各リードに関連するアダプターとサンプル塩基の数が含まれます。

このレポートには以下の情報が含まれます。

メトリクス	内容説明
Lane	サンプルをシーケンスしたフローセルのレーン。

メトリクス	内容説明
Sample_ID	サンプルシートから取得されたサンプルID。リードがどのサンプルにも対応しない場合、このフィールドには「undetermined」と表示されます。
Index	サンプルシートから取得されたIndex1シーケンス。サンプルシートにIndexが指定されていない場合、またはサンプルIDの値が「undetermined」の場合、このフィールドはブランクになります。
Index2	サンプルシートから取得されたIndex2シーケンス。サンプルシートにIndex2が指定されていない場合、またはサンプルIDの値が「undetermined」の場合、このフィールドはブランクになります。
R1_AdapterBases	サンプルシートのAdapterRead1に対応する塩基の数。
R1_SampleBases	対応するレーンおよびサンプルの、Read 1からトリムまたはマスクされた塩基の数。
R2_AdapterBases	サンプルシートのAdapterRead2に対応する塩基の数。
R2_SampleBases	対応するレーンおよびサンプルの、Read 2からトリムまたはマスクされた塩基の数。
# Reads	指定したレーンのサンプルに対するリードの数。

インデックスホッピングカウントレポート

インデックスホッピングカウントレポートには、デュアルインデックスランにおいて期待されるインデックスとホッピングが起こったインデックスのリードの数が含まれます。このレポートには、レーンごとの、どちらのインデックスでもバーコードの重複が検出されないユニークデュアルインデックスのみが含まれます。レーンのインデックスホッピングメトリクスを生成するには、各インデックス内のすべてのエントリペアに少なくとも $2N + 1$ のハミング距離が必要です。ここで N は、そのインデックスに指定されたバーコードの許容されるミスマッチ数を示します。

このレポートには以下の情報が含まれます。

インデックのないラン、シングルインデックスラン、またはユニークデュアルインデックスを含まないレーンの場合、このファイルにはヘッダーのみが含まれます。

メトリクス	内容説明
Lane	サンプルをシーケンスしたフローセルのレーン。
# Reads	指定したレーンのサンプルに対するリードの数。
SampleID	サンプルシートから取得されたサンプルID。リードがどのサンプルにも対応しない場合、このフィールドには「undetermined」と表示されます。
Index	サンプルシートから取得されたIndex1シーケンス。リードがシングルエンドの場合、またはサンプルIDの値が「undetermined」の場合、このフィールドはブランクになります。
Index2	サンプルシートから取得されたIndex2シーケンス。リードがシングルエンドの場合、またはサンプルIDの値が「undetermined」の場合、このフィールドはブランクになります。

上位の不明なバーコードレポート

上位の不明なバーコードレポートには、許容されるミスマッチ数に従って、サンプルシートで識別されなかったレーンごとの上位100のインデックスまたはインデックスペアが含まれます。100番目に高いインデックスカウントエントリーとして配置されたインデックスが複数ある場合、同じカウントのすべてのインデックス値が100番目のエントリーとして出力されます。

このレポートには以下の情報が含まれます。

メトリクス	内容説明
Lane	サンプルをシーケンスしたフローセルのレーン。
Index	Index Read 1の各不明インデックスの配列。不明インデックスがない場合、このフィールドはブランクになります。
Index2	Index Read 2の各不明インデックスの配列。ランがシングルリードの場合、または不明インデックスがない場合、このフィールドはブランクになります。
# Reads	指定したレーンのサンプルに対するリードの数。

Illumina DRAGEN QCレポート

すべてのパイプラインについて、DRAGEN FastQCは、デフォルトでQCプロットを生成します。集約されたQC結果はAggregatedFastqcMetricsフォルダーに保存され、サンプルごとの結果は<sample_name>フォルダーに保存されます。

サンプル数が512より多い場合、QCレポートは生成されません。

以下のQCプロットが提供されます。

QCプロット	内容説明
adapter_content	各塩基対のシーケンスの割合。
positional_mean_quality	各リード位置の、Phredスケールのベースクオリティスコアの平均。
gc_content	各シーケンスリードのGCコンテンツの割合。
positional_quality.read_1	Read 1の特定の位置での、特定のヌクレオチドを持つ塩基のPhredスケールのクオリティ値の平均。
gc_quality	
positional_quality.read_2	Read 2の特定の位置での、特定のヌクレオチドを持つ塩基のPhredスケールのクオリティ値の平均。
n_content	
read_length	各リードのシーケンス長。
positional_base_content.read_1	Read 1の特定の位置での、各ヌクレオチドの塩基の数。

QCプロット	内容説明
read_quality	各シーケンスリードの、Phredスケールのクオリティスコアの平均。
positional_base_content.	Read 2の特定の位置での、各ヌクレオチドの塩基の数。
read_2	

DRAGENによる二次解析の出力フォルダーの構成

デフォルト設定では、DRAGENは [Settings] タブで選択されている出力フォルダーに出力ファイルを生成します。DRAGENのワークフローごとに、サマリーレポートを含むreport.htmlファイルが生成されます。

Data

- report.html

- report_files

AggregateFastQCPlots

- *.png

- *stderr_.txt

- *stdout_.txt

- dragen_prev_48_hrs.log

- dlm_prev_48_hrs.log

- SampleSheet.csv

- ランの入力ファイル (BED ファイル、GTF ファイルなど)

sample_name

enrich_caller、germline_seq、dna_amplicon_seq、rna_seq、またはscrna_seq

sample_name

- *.png

- dragen_*.log

- sample_name.*.metrics.csv

- [DNA] sample_name.*.vcf.gz

- [DNA] sample_name.*.gvcf.gz : DRAGEN Bio-IT Platform Amplicon (体細胞) パイプラインでは提供されません。

- sample_name.*.bamまたはsample_name.*.cram

- Logs

- [RNA] sample_name.fusion_candidates.filter_info

- [RNA] sample_name.fusion_candidates.final

- [RNA] sample_name.quant.genes.sf

- [RNA] sample_name.quant.sf

- sample_name.metrics.json

- [scRNA] sample_dragen-scrna-report.*.html
- [scRNA] sample_name.scrna.barcodeSummary.tsv
- [Germline] sample_name.roh_metrics.csv
- [Germline] sample_name.roh.bed
- [Germline] sample_name.cyp2d6.tsv
- sample_name.fastqc_metrics.csv
- sample_name.trimmer_metrics.csv

📁 [RNA] DifferentialExpression

📁 Comparison1

- Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv
- Control_vs_Comparison.genes.counts.csv
- Control_vs_Comparison.genes.disp.pdf
- Control_vs_Comparison.genes.heatmap.pdf
- Control_vs_Comparison.genes.ma.pdf
- Control_vs_Comparison.genes.pca.pdf
- Control_vs_Comparison.genes.res.csv
- Control_vs_Comparison.genes.rlog.csv

📁 ComparisonN

📁 logs

- *.txt
- *.csv

📁 fastq : KeepFastq が true に設定されている場合にのみ存在します。

- *.fastq.gz

📁 ora_fastq : FastqCompressionFormat が dragen に設定されている場合にのみ存在します。

- *.fastq.ora

📁 RunInstrumentAnalyticsMetrics

📁 0001

- dataset.json
- fastqc_metrics.csv

📁 0002

- dataset.json
- fastqc_metrics.csv
- Adapter_Metrics.csv
- Demultiplex_Stats.csv
- Index_Hopping_Counts.csv

Reports

-  Demultiplex_Stats.csv
-  RunInfo.xml
-  Trim_Metrics.csv
-  fastq_list.csv
-  SampleSheet.csv
-  Index_Hopping_Counts.csv
-  Top_Unknown_Barcodes.csv

Read1InstrumentAnalyticsMetrics : ペアエンドリードの場合のみ。

0001

-  dataset.json

0002

-  dataset.json
-  Adapter_Metrics.csv
-  Demultiplex_Stats.csv
-  Index_Hopping_Counts.csv

Read1Metrics : ペアエンドリードの場合のみ。

-  Adapter_Metrics.csv
-  Index_Hopping_Counts.csv

メンテナンス

このセクションでは、正常なシステムを維持するために必要な手順について説明します。ソフトウェアアップデートのインストール方法、エアフィルターの交換方法、その他の定期的なメンテナンス手順の実施方法について記載されています。Control Softwareを最新の状態に保つことで、最新のバグ修正および機能がシステムにインストールされ、最適な性能が得られます。

Preventive Maintenance (PM)

イルミナでは、Preventive Maintenance (PM) サービスを毎年受けていただくことを推奨しています。保守契約を締結されていない場合は、営業担当またはイルミナテクニカルサポートに連絡して有償のPMサービスを手配してください。

ハードドライブスペースのクリア

シーケンスランを実行するには、ローカルハードドライブに最大600 GBのスペースが必要になる場合があります。ハードドライブの空きスペースが少ないときは、警告通知が表示されます。ハードドライブのスペースを空けるには、以下の手順に従って完了したランとインストールされているリファレンスゲノムを一時的なランフォルダーから削除します。

! | ランの削除は、オペレーティングシステムを介してマニュアルで行うのではなく、NextSeq 1000/2000 Control Softwareを使用して行ってください。マニュアルでランを削除すると、Control Softwareに悪影響が及ぶ可能性があります。

1. Control Softwareのメニューから **[Disk Management]** を選択します。
[Disk Management] 画面が開き、ローカルハードドライブに保存されているランとリファレンスゲノムのリストが表示されます。
2. 削除するランに対して **[Delete Run]** を選択します。
ランを削除すると、ローカルのランフォルダーが削除されます。ランフォルダーのコピーである出力フォルダーは残ります。
3. ダイアログボックスで **[Yes, Delete Run]** を選択してランの削除を確定します。
4. 削除する各ランについて、ステップ2と3を繰り返します。
5. 削除するゲノムに対して **[Delete Genome]** を選択します。
6. ダイアログボックスで **[Yes, Delete Genome]** を選択します。
7. 削除する各ゲノムについて、ステップ5と6を繰り返します。
8. 終了したら、 [Disk Management] を閉じて [Home] 画面に戻ります。

ソフトウェアのアップデート

ソフトウェアをアップデートすると、最新の機能やバグ修正がシステムにインストールされます。ソフトウェアのアップデートはシステムスイートにまとめられています。これには以下のソフトウェアが含まれます。

- NextSeq 1000/2000 Control Software
- NextSeq 1000/2000 recipes
- Universal Copy Service
- Real-Time Analysis

ソフトウェアアップデートの詳細については、該当するCustomer Release Notesを参照してください。

i DRAGENモジュールはシステムスイートに含まれません。必要に応じて個別にインストールしてください。ただし、DRAGENのバージョンを更新する場合、BCL Convertモジュールに中核的なDRAGENソフトウェアが含まれているため、このモジュールを最初にインストールして、最後にアンインストールする必要があります。DRAGENモジュールソフトウェアにはサポートページからアクセスします。

システム設定により、ソフトウェアのアップデートは自動またはマニュアルでダウンロードするように指定されています。

- **自動アップデート**：アップデートがBaseSpace Sequence Hubから自動的にダウンロードされ、インストールされます。このオプションを使用する場合はインターネット接続が必要ですが、BaseSpace Sequence Hubアカウントは必要ありません。
- **マニュアルアップデート**：ウェブからマニュアルでアップデートをダウンロードしてローカルまたはポータブルドライブに保存し、保存した場所からインストールを行います。このオプションを使用する場合、装置はインターネットに接続していないかもしれません。

自動でソフトウェアアップデートをインストール

1. シーケンスランまたは装置上の二次解析が進行中でないことを確認してください。
2. ilmnadminでログインします。
3. Control Softwareのメニューから **[Software Update]** を選択します。[イルミナサポートサイト](#)の該当するCustomer Release Notesを参照してください。
自動アップデートが設定されているシステムでは、ソフトウェアのアップデートが入手可能になるとアラートが表示されます。
4. アップデートを確認するには、**[Check Online for Software Update]** を選択します。
5. **[Update Now]** を選択し、新しいバージョンのソフトウェアをダウンロードします。
ダウンロードが完了すると、Control Softwareが終了し、インストールウィザードが表示されます。
6. インストール確認メッセージが表示されるまで、インストールウィザードの指示に従います。
7. 確認メッセージを閉じます。
Control Softwareが自動的に再起動します。
8. ソフトウェアの再起動後にファームウェアのアップデートを求めるメッセージが表示された場合、アップデートを進めます。
ファームウェアのアップデート中は、装置の画面が黒くなります。アップデートが終了すると、完了メッセージが表示されます。
ファームウェアをアップデートした後は必ず装置を再起動します。[109ページの「装置の再起動」](#)を参照してください。

i インストールの開始後にアップデートをキャンセルすることはできません。アップデートをキャンセルできるのはダウンロード中のみです。

マニュアルでソフトウェアアップデートをインストール

1. ilmnadminでログインします。
 2. シーケンスランまたは装置上の二次解析が進行中でないことを確認してください。
 3. ソフトウェアアップデートが入手可能な場合、[NextSeq 1000/2000システムサポートページ](#)からスマートインストーラー (*.tar.gz) をダウンロードします。インストーラーをローカルまたはポータブルドライブに保存します。
 4. インストーラーをポータブルドライブに保存した場合、USB 3.0ポートにこのドライブを接続し、インストーラーを装置にコピーします。
USB 3.0ポートは装置の側面と背面にあります。
 5. Control Softwareのメニューから **[Software Update]** を選択します。
 6. **[Choose...]** を選択し、インストーラーの場所に移動します。
 7. **[Update Now]** を選択してインストールを開始します。
インストール中はビジーインジケーターが表示されます。インストールが完了すると、インストール確認メッセージが表示されます。
 8. 確認メッセージを閉じます。
Control Softwareが自動的に再起動します。
 9. ソフトウェアの再起動後にファームウェアのアップデートを求めるメッセージが表示された場合、アップデートを進めます。
ファームウェアのアップデート中は、装置の画面が黒くなります。アップデートが終了すると、完了メッセージが表示されます。
ファームウェアをアップデートした後は必ず装置を再起動します。[109ページの「装置の再起動」](#)を参照してください。
- i** | インストールの開始後にアップデートをキャンセルすることはできません。アップデートをキャンセルできるのはダウンロード中のみです。

DRAGENワークフロー

DRAGENワークフローのインストールとDRAGENライセンスの更新ができるのは、システム管理者のみです。

装置には無料のDRAGENライセンスが付属しています。DRAGENライセンスについて問題がある場合は、カスタマーケアにお問い合わせください。

オンラインでのDRAGENワークフローのインストール

NextSeq 1000/2000がインターネットに接続されている場合は、NextSeq 1000/2000 Control Softwareで直接、DRAGENワークフローをインストールできます。オンラインでDRAGENワークフローをインストールできるのは、NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3以降のみです。

1. Control Softwareのメニューを選択し、**[Process Management]** を選択します。
2. シーケンスランまたは装置上の二次解析が進行中でないことを確認してください。
3. Control Softwareのメニューを選択し、**[DRAGEN]** を選択します。
[Version] の [Available Workflows] セクションに、システムに現在インストールされているワークフローが一覧表示されます。

4. NextSeq 1000/2000 Control SoftwareでDRAGENワークフローをインストールするには、
[Check Online] を選択します。
DRAGENのバージョンやワークフローによっては、オンラインでのインストールに対応していない場合
があります。その他のワークフローについてはオフラインでのインストールを使用してください。
5. インストールするワークフローのチェックボックスを選択します。最新バージョンのBCL Convertがイ
ンストールされていない場合は、必ずこのワークフローを最初にインストールしてください。
最新バージョンのワークフローに関する情報は、リリースノートで確認できます。
6. [Install] を選択してインストールを開始します。
7. システムパスワードにilmnadminパスワードを入力し、[Authenticate] を選択します。

オフラインでのDRAGENワークフローのインストール

1. DRAGENワークフローのアップデートが入手可能な場合、[NextSeq 1000/2000システムサポートペー
ジ](#)からインストーラー (*.tar.gz) をダウンロードします。インストーラーをローカルまたはポータブル
ドライブに保存します。
2. インストーラーをポータブルドライブに保存した場合、USB 3.0ポートにこのドライブを接続し、イン
ストーラーを装置にコピーします。
USB 3.0ポートは装置の側面と背面にあります。
3. Control Softwareのメニューを選択し、[Process Management] を選択します。
4. シーケンスランまたは装置上の二次解析が進行中でないことを確認してください。
5. Control Softwareのメニューを選択し、[DRAGEN] を選択します。
6. [Version] で [Browse for New Version] を選択し、インストーラーの場所に移動します。
7. [Install] を選択してインストールを開始します。
8. システムパスワードにilmnadminパスワードを入力し、[Authenticate] を選択します。

エアフィルターの交換

以下の手順に従って、使用期限が切れたエアフィルターを6ヶ月ごとに交換します。

エアフィルターは使い捨ての長方形のカートリッジで、装置右側にあるファンをカバーしています。この
フィルターにより、システムが適切に冷却され、システムへの異物の侵入が防止されます。エアフィルター
は、最初から装置に1つ装着されています。追加の予備フィルターは、有効な装置サービス契約に含まれてい
るほか、イルミナから別途購入することもできます。

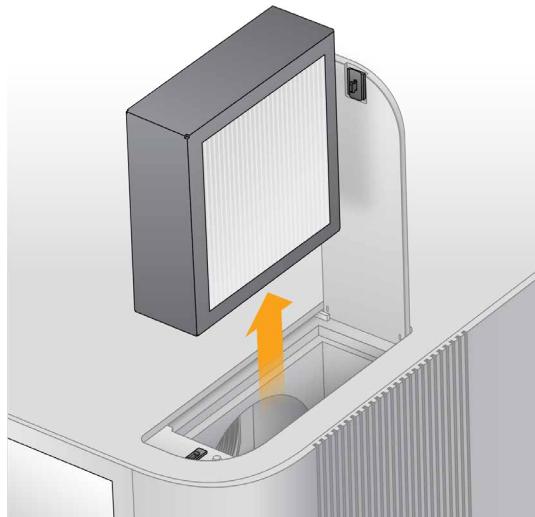
1. 装置上部の右側にあるパネルを押してロックを外します。



2. パネルを開きます。

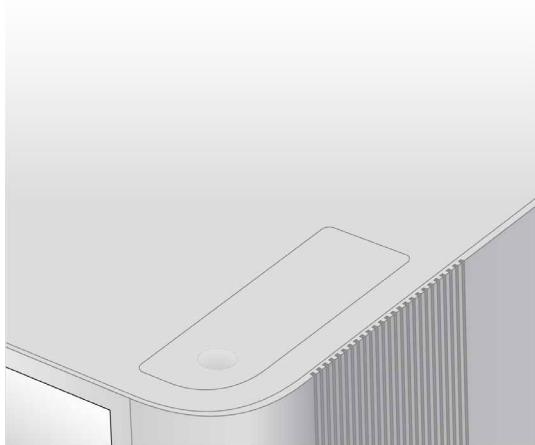


3. エアフィルターカートリッジを押して固定を解除し、パネルの中央から取り出します。取り出したカートリッジは処分します。



4. 新しいエアフィルターを挿入し、押して固定します。

5. 上部パネルを閉じ、押して所定位置にはめ込みます。



6. 装置を元の状態に戻します。

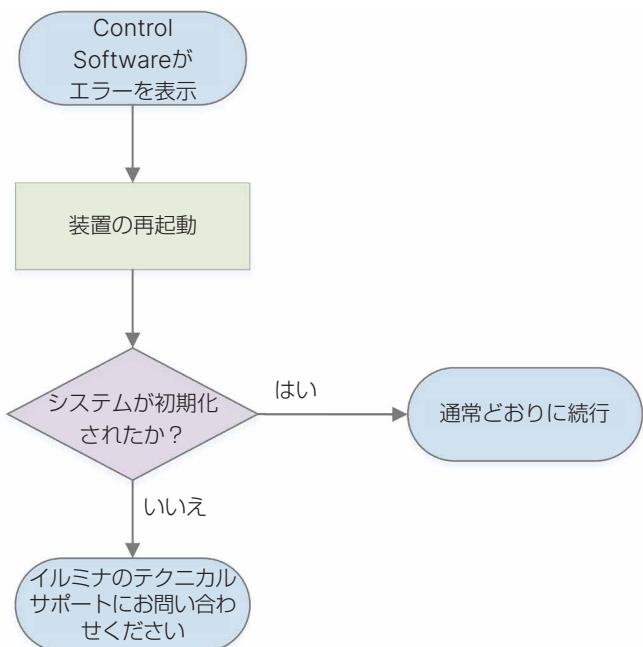
トラブルシューティング

このセクションでは、ランの取り消し、装置の再起動、その他のトラブルシューティングの手順をステップごとに説明します。

エラーメッセージの解消

この付録にはさまざまなトラブルシューティングステップの詳細な説明が記載されています。次のフローチャートは、エラーメッセージが初期化中、ランセットアップ中、またはシーケンス中に表示され、再試行しても解消されない場合のトラブルシューティングの概要を示しています。

エラーの多くは、装置の再起動（いったん電源を切って入れ直す）によって解消されます。装置の再起動の詳細については、[109ページの「装置の再起動」](#)を参照してください。



消耗品を冷蔵庫に戻す

プレランチェック中のフルイディクスチェックの前に装置のエラーが発生した場合は、以下の手順に従って融解したカートリッジとフローセルを保管します。

1. カートリッジからフローセルを外します。
 2. リザーバーから希釈済みライブラリーを排出して廃棄します（最大約18 µL）。
- !** | リザーバー内に残っているライブラリーに対してサンプルのクロス kontaminationが起こらないようにするため、次回のラン用に同じライブラリーの新しい希釈物を調製します。

3. カートリッジを2°C~8°Cの冷蔵庫に入れます。その際、ラベルを上に向けてすべての面を空気が循環するようにします。
4. 以下のガイダンスに従って、消耗品を保管します。
 - XLEAP-SBS消耗品 :
 - カートリッジを16時間かけて冷蔵庫で融解した場合は、どのキット構成でも56時間を超えないようにします。
 - スタンダードSBS消耗品 :
 - 72時間を超えないようにしてください。
 - 100サイクル、200サイクル、または300サイクルのカートリッジを冷蔵庫で12時間かけて融解した場合は、60時間を超えないようにします。
 - 600サイクルのカートリッジを冷蔵庫で16時間かけて融解した場合は、56時間を超えないようにします。
5. フローセルを元の銀色のホイルパッケージに戻し、乾燥剤を入れます。
6. ホイルパッケージをテープで封止し、2°C~8°Cの冷蔵庫に保管します。

ランの取り消し

1. **[End Run]** を選択します。
2. 試薬カートリッジを自動的にページするには、**[Purge Reagent Cartridge]** チェックボックスを選択します。
デフォルト設定は、NextSeq 1000/2000 Control Softwareの設定に従います。
3. **[Yes, end the sequencing run]** を選択します。
ランの取り消しは終了を意味します。プレランチェックの装置チェック部分が終了した後は、ランを再開できず、消耗品は再利用できません。
4. **[Eject Cartridge]** を選択してバイザーを開き、トレイを取り出します。
5. トレイからカートリッジを取り出します。
6. 以下のようにカートリッジを保管または処分します。
 - 装置のプレランチェックの前またはプレランチェック中に取り消しを行い、消耗品を再利用する場合は、[107ページの「消耗品を冷蔵庫に戻す」](#) を参照してください。
 - その他の取り消しについては、[74ページの「スタンダードSBSのシーケンスランの開始」](#) を参照してください。
7. **[Close Door]** を選択し、トレイを再ロードして **[Home]** 画面に戻ります。
センサーによってカートリッジの取り出しが確認されます。

ランのリキュー

Process Managementの [Status of Secondary Analysis] にエラーが表示された場合、ランをリキューして、生成されたCBCLファイルに対して装置上のDRAGENによる解析を再度実行できます。リキュー機能を使用するには、元のランフォルダーが装置に存在している必要があります。このリキュー機能を使用して、BaseSpace Sequence Hub上のランをリキューすることはできません。BaseSpace Sequence Hub上のランをリキューするには、[BaseSpace Sequence Hubサポートページ](#)を参照してください。

- サンプルシートv2を更新し、ポータブルドライブまたはマウントされたネットワークドライブに保存します。
- サンプルシートをポータブルドライブに保存した場合、装置の側面および背面にあるUSB 3.0ポートにこのドライブを接続します。必要な場合は、背面にアクセスできるようにゆっくりと装置を動かします。
- Control Softwareのメニューを選択し、[Process Management] を選択します。
- シーケンスランや装置上の二次解析が進行中でないことを確認します。
- リキューする完了済みランの横の [Requeue] を選択します。
- [Choose] を選択し、更新したサンプルシートの場所に移動して [Open] を選択します。
- [Start Requeue] を選択します。

装置の再起動

装置を再起動すると、システムが安全にシャットダウンしてから再始動します。これは、切断した接続の回復、仕様の調節、初期化時の不具合の解決に役立ちます。ソフトウェアのメッセージは、エラーまたは警告を解決するために再起動すべきタイミングを示します。

- Control Softwareのメニューから [Shut Down Instrument] を選択します。
- システムがシャットダウンしない場合は、装置右側の電源ボタンを光が消えるまで押し続けます。
- 電源ボタンが点滅したら、背面パネルにあるトグルスイッチの電源オフ側 (O) を押します。電源をオフにした後、電源ボタンが点滅し続ける場合があります。

図 6 トグルスイッチの位置



4. 30秒待ちます。
5. トグルスイッチの電源オン側 (I) を押します。
6. 電源ボタンが点滅したら、30秒待ってから、電源ボタンを押します。

図 7 電源ボタンの位置



7. オペレーティングシステムがロードされるまで、5分ほど待ちます。オペレーティングシステムがロードされたら、システムにログオンします。
コントロールソフトウェアが起動し、システムが初期化されます。システムが初期化されるまで、5分ほど待ちます。初期化が完了するとホーム画面が表示されます。

システムチェックの実施

正常に動作しているときや装置のメンテナンスのためにシステムチェックを行う必要はありません。ただし、トラブルシューティングの目的でイルミナテクニカルサポートの担当者からシステムチェックを実施するよう求められることがあります。

プレランチェックのエラーやその他の問題を解決するために、4つのサブシステムを約58分でチェックします。

これらのテストは、コンポーネントが適切に調整されていて正しく機能するかどうかを確認します。

テスト結果は、/usr/local/illumina/system-checkにあるsystem-checkフォルダーに出力されます。システムチェックを実行する前にカートリッジを必ず取り出してください。

システムチェックの実行

1. Control Softwareのメニューから **[System Check]** を選択します。
2. 以下のシステムチェックの中から、実施する項目のチェックボックスを選択します。
 - **Network Connectivity** : ネットワークの接続状態とパフォーマンスをチェックします。
 - **Enclosure** : 熱システムとバイザーの持ち上げ機構の性能をチェックします。
 - **Motion** : ZステージとXYステージの移動範囲と性能をチェックします。
 - **Optics** : イメージングモジュールの性能をチェックします。
3. **[Start]** を選択します。

インストール済みイメージの取得

詳細については、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。

取得したイメージの回復

詳細については、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。

リソースおよび参考資料

[イルミナサポートサイト](#)のNextSeq 1000/2000システムのページで、追加のシステムリソースが提供されています。これらのリソースには、ソフトウェア、トレーニング、適合製品、および以下の添付資料が含まれます。サポートページを定期的に確認して最新バージョンを入手してください。

リソース	内容説明
サンプルシートv2	イルミナの装置、プラットフォーム、および解析パイプラインでのv2サンプルシート (*.csv) ファイルの使用に関する情報。
『Illumina Adapter Sequences』 (文書番号 : 1000000002694)	イルミナライブラリー調製キットのアダプターシーケンスの一覧表を提供します。
製品セキュリティポータル	シーケンスシステムに搭載された制御コンピューターのセキュリティを管理するためのガイドライン。これらのガイドラインに従ってシステムを設定し、より安全な動作環境を確保します。
『Index Adapters Pooling Guide』 (文書番号 : 1000000041074)	プーリングガイドラインとデュアルインデックスの方法について説明しています。
『RFID Reader Module Compliance Guide』 (文書番号 : 1000000002699)	装置のRFIDリーダー、コンプライアンス認証、安全性検討事項に関する情報を提供します。

ダークサイクルシーケンス

このセクションでは、ダークサイクルシーケンスを組み込む方法について説明します。

[イルミナサポートサイト](#)のNextSeq 1000/2000システムのページで、使用する試薬キット用のカスタムレシピが提供されているかどうかを確認してください。XLEAP-SBSとスタンダードSBSには、さまざまなカスタムレシピがあります。レシピが提供されていない場合は、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。

ダークサイクルシーケンスは、シーケンスサイクルのケミストリーステップのみを実施する場合に使用します。[イルミナサポートサイト](#)で使用するライブラリー調製キットのCompatible Productsページを参照して、ダークサイクルシーケンスが必要かどうかを確認してください。

NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3以降をIllumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero PlusおよびIllumina Stranded mRNA Prepで使用する場合、サンプルシートでライブラリー調製が指定されていると、ソフトウェアによって適切なダークサイクルレシピが選択されます。

ダークサイクルシーケンスを使用するには、以下の手順に従います。

レシピファイルの編集

1. [イルミナサポートサイト](#)のNextSeq 1000/2000システムのページからレシピXMLファイルをダウンロードします。
2. レシピXMLファイルを編集します。
 - a. 使用するリードおよびインデックス化されたシーケンスの設定に基づいて、該当するプロトコールセクションを特定します。カスタムレシピで編集可能なプロトコールは6つあります。例えば、インデックスシーケンスを行わないリード1のみのシーケンスに対応するプロトコールは、
`<Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index" >`です。
 - b. `<ReadRef ReadName="Read 1" />`および`<ReadRef ReadName="Read 2" />`より前に、ダークサイクルステップを示す次の行を入力します。
`<DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />`
 - c. 必要なすべてのダークサイクルについて、ダークサイクルステップの行を入力します。

3. レシピXMLファイルを保存します。

ダークサイクルステップを含むサンプルレシピを以下に示します。

```

<Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index" >

  <ChemistryRef ChemistryName="Start" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
  <ChemistryRef ChemistryName="BIX Mixing" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
  <ChemistryRef ChemistryName="ExAmp Transfer" />
  <ChemistryRef ChemistryName="ExAmp Mixing" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
  <Obdd ChemistryName="Library Denaturation and Dilution" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
  <Obcg ChemistryName="Cluster Generation" />
  <ChemistryRef ChemistryName="SBS Prime" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Read Prep" />
  <DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />
  <ReadRef ReadName="Read 1" />
  <SetThermalZoneTemp Enable="false" Zone="FlowCellHeater" />

</Protocol>

<Protocol Name="1 Read 1 Index" ProtocolType="1Read1Index" >

  <ChemistryRef ChemistryName="Start" />
  <ChemistryRef ChemistryName="2min 60C Vacuum Hold" />
  ...

```

ランへのレシピの添付

1. Control Softwareの [Run Setup] で、 [Custom Recipe] の [**Choose**] を選択します。
2. 更新したレシピXMLファイルの場所に移動します。
3. [**Open**] を選択します。
4. [74ページの「スタンダードSBSのシーケンスランの開始」](#)に戻ります。

Sample Sheet v2リソース

v2サンプルシートファイル (*.csv) をイルミナの装置、プラットフォーム、解析パイプラインで使用する方法については、[Sample Sheet v2リソースサポートページ](#)を参照してください。

改訂履歴

文書番号	日付	変更内容
200027171 v05	2025年8月	<p>以下を追加。</p> <ul style="list-style-type: none"> オペレーティングシステムとシーケンスケミストリーの互換性情報。 外部USBドライブへのデータ転送に関するガイダンス。 ステータス問題のトラブルシューティングに関するガイダンス。 <p>以下を更新。</p> <ul style="list-style-type: none"> IM交換用エアフィルターMN。 スタンダードSBSカスタムプライマー。
200027171 v04	2024年5月	<p>XLEAP-SBSケミストリーによって生じた手順変更のリストに情報を追加。</p> <p>ターミナルを介したCentOSの更新手順を削除。</p> <p>以下を更新。</p> <ul style="list-style-type: none"> カスタムプライマーに関するガイダンス。 XLEAP-SBS P4 Reagent Kitのシングルリード数。 XLEAP-SBS消耗品の保管に関するガイダンス。 CSW v1.7以降でのダークサイクルシーケンスに関するガイダンス。 <p>XLEAP-SBSのローディング量とローディング濃度の表を整理し、リストにないライブラリータイプに関するガイダンスを削除。</p> <p>工場出荷時の設定に戻す方法に関するガイダンスを削除。</p> <p>サンプルシートv2に関する参考資料へのリンクを追加。</p> <p>Preventive Maintenance (PM) のスケジュール設定に関するガイダンスを追加。</p> <p>イメージ取得と回復に関するガイダンスを削除。</p> <p>外部接続ポートを削除。</p>
200027171 v03.1	2024年3月	表の誤記を修正。

文書番号	日付	変更内容
200027171 v03	2024年2月	<p>XLEAP-SBSケミストリーワークフローについての情報を追加。</p> <p>XLEAP-SBSケミストリーを含めるために、消耗品と装置を更新。</p> <p>XLEAP-SBSワークフローのシーケンスプロトコールの章を作成。以下を更新。</p> <ul style="list-style-type: none"> • 入手可能なシーケンス消耗品とそれらの構成。 • ローディング濃度とサポートされているサイクル数。 • 融解時間とカートリッジの準備手順。 • XLEAP-SBSに関するプライマーキットおよび構成。 • フローセルタイルデータ。 • Qスコアの基準。XLEAP-SBSを追加。 <p>新しいCSW、DRAGEN SW、RTAに従った全体的な変更。</p> <p>クラスターがフィルターを通過しない条件を追加。</p> <p>試薬キットv03の古い参照を削除。</p> <p>カスタムプライマーのカスタムレシピの使用への参照を削除。</p>
200027171 v02	2023年5月	<p>カスタムプライマーの使用に関する指示を明確化。</p> <p>優先イーサネットポートに関するガイダンスを更新。</p> <p>デフォルト出力フォルダーの場所のオプションをNextSeq 1000/2000 Control Software v1.5.0に合わせて更新。</p> <p>SMB/CIFSおよびNFSのマウント手順をNextSeq 1000/2000 Control Software v1.5.0に合わせて更新。</p> <p>サンプルシートv2に関する内容を再編成し、『Sample Sheet v2 Resource』（文書番号：200017024）を参照するように変更。</p>
200027171 v01	2022年12月	<p>消耗品のロード手順を明確化。</p> <p>ダークサイクルシーケンスのカスタムレシピに関する指示を更新。サポートされているネットワークドライブのマウント方式に関する情報を拡充。</p>

文書番号	日付	変更内容
200027171 v00	2022年11月	<p>初版リリース。HTML形式を追加し、NextSeq 1000および2000の『Denature and Dilute Libraries Guide』、『Custom Primers Guide』、『System Guide』、『Safety and Compliance Guide』、および『Site Prep Guide』を統合。</p> <p>この統合の結果として、以下の文書は廃止されました。</p> <ul style="list-style-type: none"> 『NextSeq 1000 and 2000 Denature and Dilute Libraries Guide』（文書番号：1000000139235） 『NextSeq 1000 and 2000 Sequencing System Custom Primers Guide』（文書番号：1000000139569） 『NextSeq 1000 and 2000 Sequencing System Guide』（文書番号：1000000109376） 『NextSeq 1000 and 2000 Sequencing System Safety and Compliance Guide』（文書番号：1000000111928） 『NextSeq 1000 and 2000 Sequencing System Site Prep Guide』（文書番号：1000000109378）



イルミナ株式会社
東京都港区芝5-36-7
三田ベルジュビル22階
サポート専用フリーダイヤル
0800-111-5011
techsupport@illumina.com
jp.illumina.com

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。
© 2025 Illumina, Inc. All rights reserved.

illumina®