

# トラブルシューティング編 MiSeqのランが途中で中断した時のデータ解析

August 8, 2014



米田 瑞穂

イllumina株式会社テクニカルサポート部  
テクニカルアプリケーション サイエンティスト

© 2014 Illumina, Inc. All rights reserved. Illumina, 24sure, BaseSpace, BeadArray, BlueFish, BlueFuse, BlueGnome, cBot, CSPro, CytoChip, DesignStudio, Epicentre, GALx, Genetic Energy, Genome Analyzer, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, HiSeq X, Infinium, iScan, iSelect, ForenSeq, MiSeq, MiSeqDx, MiSeqFGx, NeoPrep, Nextera, NextBio, NextSeq, Powered by Illumina, SeqMonitor, SureMDA, TruGenome, TruSeq, TruSight, Understand Your Genome, UYG, VeraCode, verifi, VeriSeq, the pumpkin orange color, and the streaming bases design are trademarks of Illumina, Inc. and/or its affiliate(s) in the U.S. and/or other countries. All other names, logos, and other trademarks are the property of their respective owners.

illumina®

# 本日のOutline

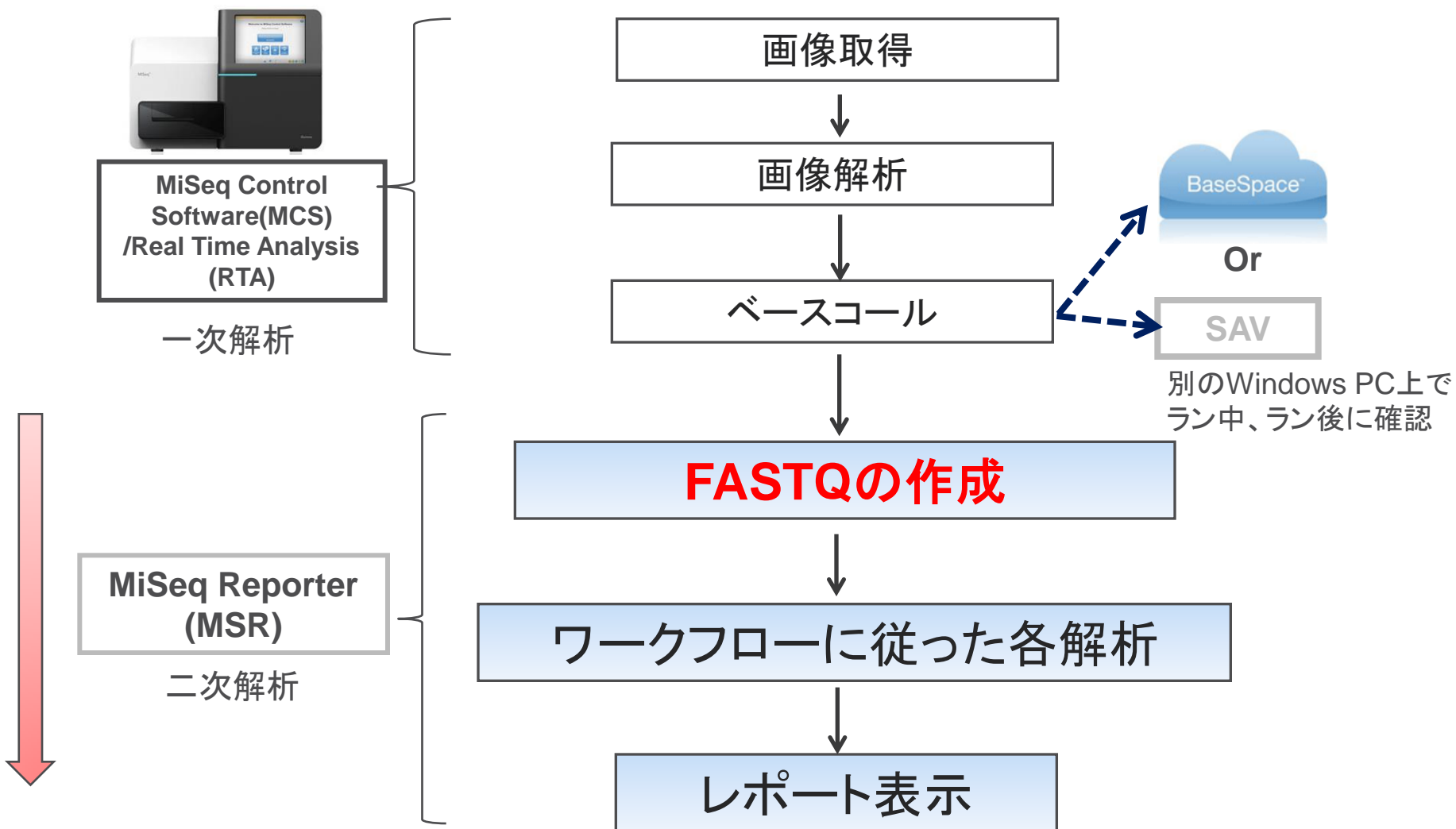
- ▶ FASTQが作成されるまでの過程
- ▶ 途中で停止したMiSeqのランからFASTQを作成する方法



# MiSeqランのワークフロー



# MiSeq データ解析



# FASTQとは？

- ▶ 配列とクオリティースコアが含まれるファイル
- ▶ FASTQファイルの例；

```
@HWI-BRUNOP20X:994:B809UWABXX:1:1101:13501:2240 1:N:0:CTTGTA
```

```
TGAAACCAGTGTTCTTAATTGGCATTTTACACACACACACACAGAATTTAAAAAAAAAATCAAAGGAAATCATTCTAAATGTACTATGATAGCATGTTAAA
```

```
+
```

```
=55>7;?:.BDADDD@EE88DCD?DFEFFFECBE6666BB=B;<;<-34:;<CB51>=BBEE>EE?3D@??CB->:=.AA8DDDDDBBE9;=?:/89<E
```

```
@HWI-BRUNOP20X:994:B809UWABXX:1:1101:13660:2247 1:N:0:CTTGTA
```

```
CCAAACATTAAGTAACTCTTAAAATGGCACACAGGTTTTAAAGCTATTGGTTTTTCCTCCTAACTCTCTGAATTTTTCCCTGGCCTTTGTAGATCAACT
```

```
+
```

```
FFEDFBGEGGGGDFGEFFFFGGDF=FBFFFGGGE7CEEDEFBFBFGEEGF@FCDDDFDFEGFEAGFGGGGD.;DDGG@FGE.EBEFGFGFCEFEDEF8
```

```
@HWI-BRUNOP20X:994:B809UWABXX:1:1101:13966:2183 1:N:0:CTTGTA
```

```
TTGGGTAACCTGAATATAACATGGCTCCCTTGCTGTAAGCAAATGTTTTAGAGCTGAATTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAAGCCAAGAAGTTCACC
```

# 途中で停止してしまったMiSeqランからのFASTQ作成方法

- ▶ エラー等でランが途中で止まってしまったMiSeqランフォルダのデータから、止まる前のサイクルまでのFASTQを作成することが可能です。
- ▶ ランが完了していない場合でも、
  - ①RunInfo.xml、②RunParameters.xml、③SampleSheet.csv
  - ④\*.bcl                   ⑤RunState.xml、                   ⑥RTAComplete.txt6種のファイルをもとに、MiSeq ReporterでFASTQが作成できます。
- ▶ 失敗したランからデータのレスキューがどうしても必要となった場合の救済措置としてご利用下さい。

# 途中で停止してしまっただMiSeqランからのFASTQ作成方法

必要な  
ファイル  
の確認

ファイル  
の編集

MSRでの  
リキュー

FASTQ  
の出力

# 必要なファイルの確認 – フォルダの確認 –

FASTQファイルを作成させたい、途中で停止してしまったMiSeqランのデータの入ったランフォルダ D:\¥Illumina¥MiSeqAnalysis¥



MiSeq Reporter (MSR) が使用できるPC環境下に置く (MiSeq上でも可)

Name	Date modified	Type
140722_M0	7/ 14 3:20 PM	File folder
140723_M0	7/ 14 12:57 AM	File folder
140726_M0	7/ 14 6:59 AM	File folder
140728_M0	7/ 14 3:40 PM	File folder
140729_M0	7/ 14 10:46 PM	File folder



FASTQファイルを作成させたいMiSeqランフォルダ



# 必要なファイルの確認 – 6種類のファイルの確認 –

ランが途中で止まった場合には、正常に終了した場合と比べてファイルの数が大きく異なる



MiSeqAnalysisフォルダのランフォルダの中に、下記6種のファイルがあることを確認する

- ①RunInfo.xml ②RunParameters.xml ③SampleSheet.csv
- ④中断した前のサイクルまでのbclファイル ⑤RunState.xml ⑥RTACComplete.txt

D:¥Illumina¥MiSeqAnalysis¥”runfolder”

名前	更新日時	種類
Config	2014/0 :07	ファイル フォルダー
Data	2014/0 :07	ファイル フォルダー
InterOp	2014/0 :07	ファイル フォルダー
Recipe	2014/0 :19	ファイル フォルダー
Thumbnail_Images	2014/0 :08	ファイル フォルダー
RunCheckDetail.txt	2014/0 :14	テキスト ドキュメント
⑤RunState.xml		
①RunInfo.xml	2014/0 :20	XML ドキュメント
②runParameters.xml	2014/0 :20	XML ドキュメント
③SampleSheet.csv	2014/0 :07	Microsoft Excel CSV ファイル

# 必要なファイルの確認 — 6種類のファイルの確認 —

④ bclファイルは多少奥まったところに存在する。



D:¥Illumina¥MiSeqAnalysis¥”runfolder”¥Data¥Intensities¥BaseCalls¥L001

Name	Date modified	Type
BaseCalls	2014 8:44 PM	File folder
L001	2014 9:18 PM	File folder
Offsets	2014 7:45 AM	File folder
config.xml	2014 8:16 PM	XML Document
RTAConfiguration.xml	2014 9:01 AM	XML Document

[L001]フォルダを開く

# 必要なファイルの確認 – 6種類のファイルの確認 –

[L001]フォルダには、“CX.1” (Xはサイクル数)という名称のフォルダが複数存在する。  
このフォルダに存在する28個 or 38個の.bclファイルが、4種類目の必要ファイルとなる。

名前	更新日時	種類
C132.1	201	ファイル フォルダ
C133.1	201	ファイル フォルダ
C134.1	201	ファイル フォルダ
C135.1	201	ファイル フォルダ
C136.1	201	ファイル フォルダ
C137.1	201	ファイル フォルダ
C138.1	201	ファイル フォルダ
C139.1	201	ファイル フォルダ
C140.1	201	ファイル フォルダ
C141.1	201	ファイル フォルダ
C142.1	201	ファイル フォルダ
C143.1	201	ファイル フォルダ
C144.1	201	ファイル フォルダ
C145.1	201	ファイル フォルダ
C146.1	201	ファイル フォルダ
C147.1	201	ファイル フォルダ
C148.1	201	ファイル フォルダ
C149.1	201	ファイル フォルダ
C150.1	201	ファイル フォルダ
C151.1	201	ファイル フォルダ
C152.1	201	ファイル フォルダ
C153.1	201	ファイル フォルダ
C154.1	201	ファイル フォルダ
C155.1	201	ファイル フォルダ
C156.1	201	ファイル フォルダ
C157.1	201	ファイル フォルダ

s\_1\_1101.bcl s\_1\_2101.stats  
s\_1\_1101.stats s\_1\_2102.bcl  
s\_1\_1102.bcl s\_1\_2102.stats  
s\_1\_1102.stats s\_1\_2103.bcl  
s\_1\_1103.bcl s\_1\_2103.stats  
s\_1\_1103.stats s\_1\_2104.bcl  
s\_1\_1104.bcl s\_1\_2104.stats  
s\_1\_1104.stats s\_1\_2105.bcl  
s\_1\_1105.bcl s\_1\_2105.stats  
s\_1\_1105.stats s\_1\_2106.bcl  
s\_1\_1106.bcl s\_1\_2106.stats  
s\_1\_1106.stats s\_1\_2107.bcl  
s\_1\_1107.bcl s\_1\_2107.stats  
s\_1\_1107.stats s\_1\_2108.bcl  
s\_1\_1108.bcl s\_1\_2108.stats  
s\_1\_1108.stats s\_1\_2109.bcl  
s\_1\_1109.bcl s\_1\_2109.stats  
s\_1\_1109.stats s\_1\_2110.bcl  
s\_1\_1110.bcl s\_1\_2110.stats  
s\_1\_1110.stats s\_1\_2111.bcl  
s\_1\_1111.bcl s\_1\_2111.stats  
s\_1\_1111.stats s\_1\_2112.bcl  
s\_1\_1112.bcl s\_1\_2112.stats  
s\_1\_1112.stats s\_1\_2113.bcl  
s\_1\_1113.bcl s\_1\_2113.stats  
s\_1\_1113.stats s\_1\_2114.bcl  
s\_1\_1114.bcl s\_1\_2114.stats  
s\_1\_1114.stats s\_1\_2101.bcl

フォルダを開き、  
拡張子.bclがついた  
ファイルの数を確認する

# 必要なファイルの確認 — 6種類のファイルの確認 —

[L001]フォルダにある、「C**X**.1」という名称のフォルダのうち、**X**の数字が最も大きいものがデータを取得できた最後のサイクルとなる。

名前	更新日時	種類
C132.1	201	ファイル フォルダ
C133.1	201	ファイル フォルダ
C134.1	201	ファイル フォルダ
C135.1	201	ファイル フォルダ
C136.1	201	ファイル フォルダ
C137.1	201	ファイル フォルダ
C138.1	201	ファイル フォルダ
C139.1	201	ファイル フォルダ
C140.1	201	ファイル フォルダ
C141.1	201	ファイル フォルダ
C142.1	201	ファイル フォルダ
C143.1	201	ファイル フォルダ
C144.1	201	ファイル フォルダ
C145.1	201	ファイル フォルダ
C146.1	201	ファイル フォルダ
C147.1	201	ファイル フォルダ
C148.1	201	ファイル フォルダ
C149.1	201	ファイル フォルダ
C150.1	201	ファイル フォルダ
C151.1	201	ファイル フォルダ
C152.1	201	ファイル フォルダ
C153.1	201	ファイル フォルダ
C154.1	201	ファイル フォルダ
C155.1	201	ファイル フォルダ
C156.1	201	ファイル フォルダ
C157.1	201	ファイル フォルダ

FASTQ作成が可能なサイクルの上限

※作成可能なFASTQファイルは、最後のサイクルまでとなる。

この場合は157サイクル

# 必要なファイルの確認 — 6種類のファイルの確認 —

⑤ [RunState.xml] ファイルは、[Recipe] フォルダの中に存在する。

D:\¥Illumina¥MiSeqAnalysis¥runfolder

名前	更新日時	種類
Config	2014/1/17	ファイル フォルダー
Data	2014/1/17	ファイル フォルダー
InterOp	2014/1/17	ファイル フォルダー
Recipe	2014/1/19	ファイル フォルダー
Thumbnail_Images	2014/1/18	ファイル フォルダー
RunCheckDetail.txt	2014/1/14	テキスト ドキュメント
RunInfo.xml	2014/1/10	XML ドキュメント
RunParameters.xml	2014/1/10	XML ドキュメント
SampleSheet.csv	2014/1/17	Microsoft Excel CSV ファイル

※[Recipe]フォルダが存在しないことがある。

[Recipe]フォルダが見当たらない場合は、別なランフォルダからコピーして持ってくる。

[Recipe]フォルダの内容は問わないので、コピーするのはどのランのものでもよい。

# 必要なファイルの確認 — 6種類のファイルの確認 —

[Recipe]フォルダの中に、[RunState.xml] ファイルが存在する。

名前	更新日時	種類
 MSYYYYYYY-500V2.xml	2014/0	20 XML ドキュメント
 RunState.xml	2014/0	20 XML ドキュメント

# 必要なファイルの確認 – 6種類のファイルの確認 –

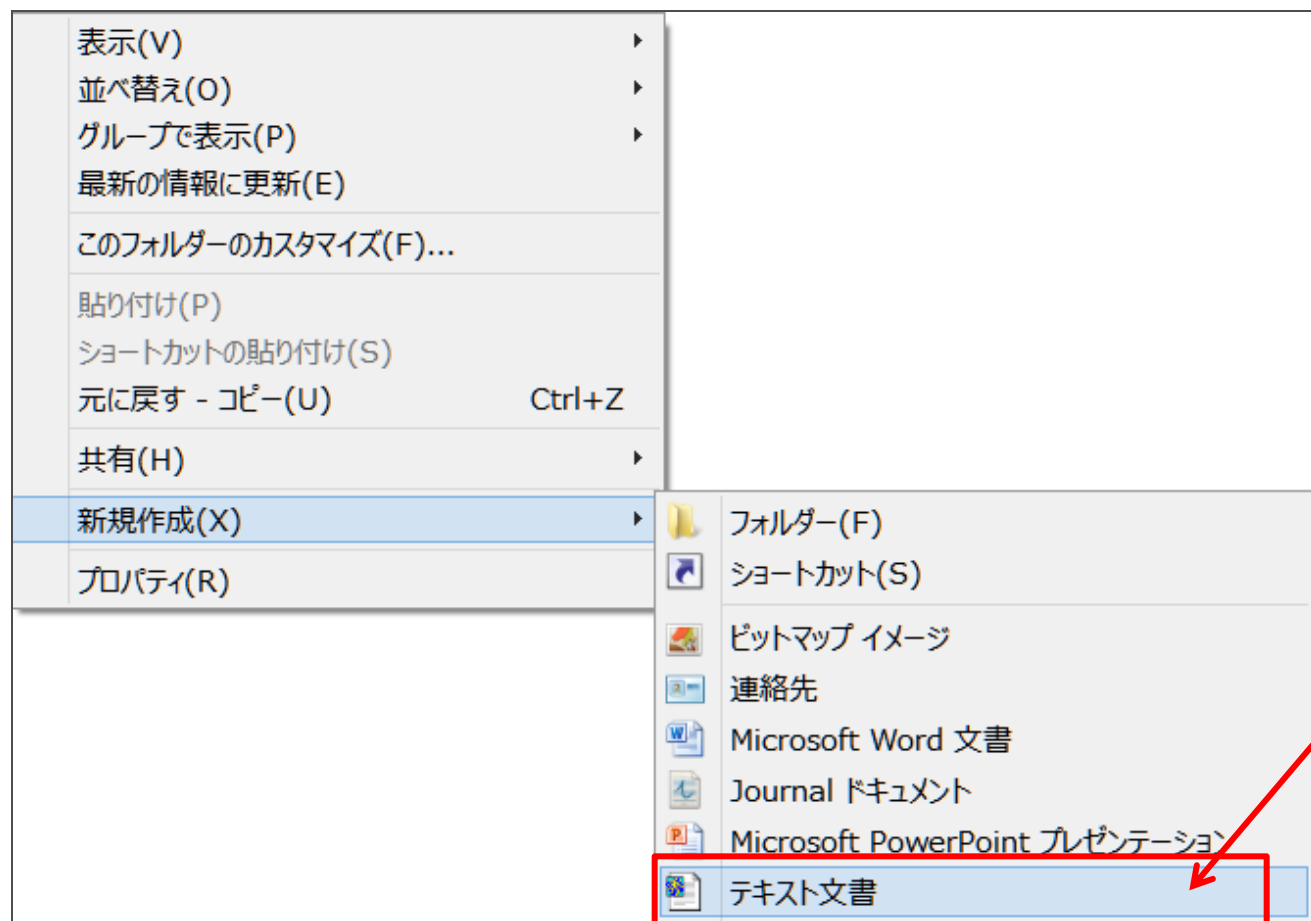
ランフォルダ直下に[RTAComplete.txt]という名称のファイルを作成する。  
中身は空のままで構わないので、[RTAComplete.txt]というファイルを新しく作る。

名前	更新日時	種類
Config	2014/()	7 ファイル フォルダー
Data	2014/()	7 ファイル フォルダー
InterOp	2014/()	7 ファイル フォルダー
Recipe	2014/()	9 ファイル フォルダー
Thumbail_Images	2014/()	8 ファイル フォルダー
RTAComplete.txt	2014/()	5 テキスト ドキュメント
RunCheckDetail.txt	2014/()	4 テキスト ドキュメント
RunInfo.xml.20140808	2014/()	0 20140808 ファイル
RunInfo.xml	2014/()	0 XML ドキュメント
RunParameters.xml	2014/()	0 XML ドキュメント
SampleSheet.csv	2014/()	7 Microsoft Excel CSV ファイル

このファイルを作成する

# ファイルの編集 — ⑤ [RTAComplete.txt]の編集 —

フォルダの中で右クリックし、[新規作成] ⇒ [テキスト文書] へと進み、  
[RTAComplete.txt] という名称で保存する



ファイルを作成する



# 途中で停止してしまっただMiSeqランからのFASTQ作成方法

必要な  
ファイル  
の確認

ファイル  
の編集

MSRでの  
リキュー

FASTQ  
の出力

# ファイルの編集

以下のファイルをNotepadなどのテキストエディタで開き、必要部分に編集を加える。

- ①RunInfo.xml
- ②RunParameters.xml
- ③SampleSheet.csv
- ④RunState.xml

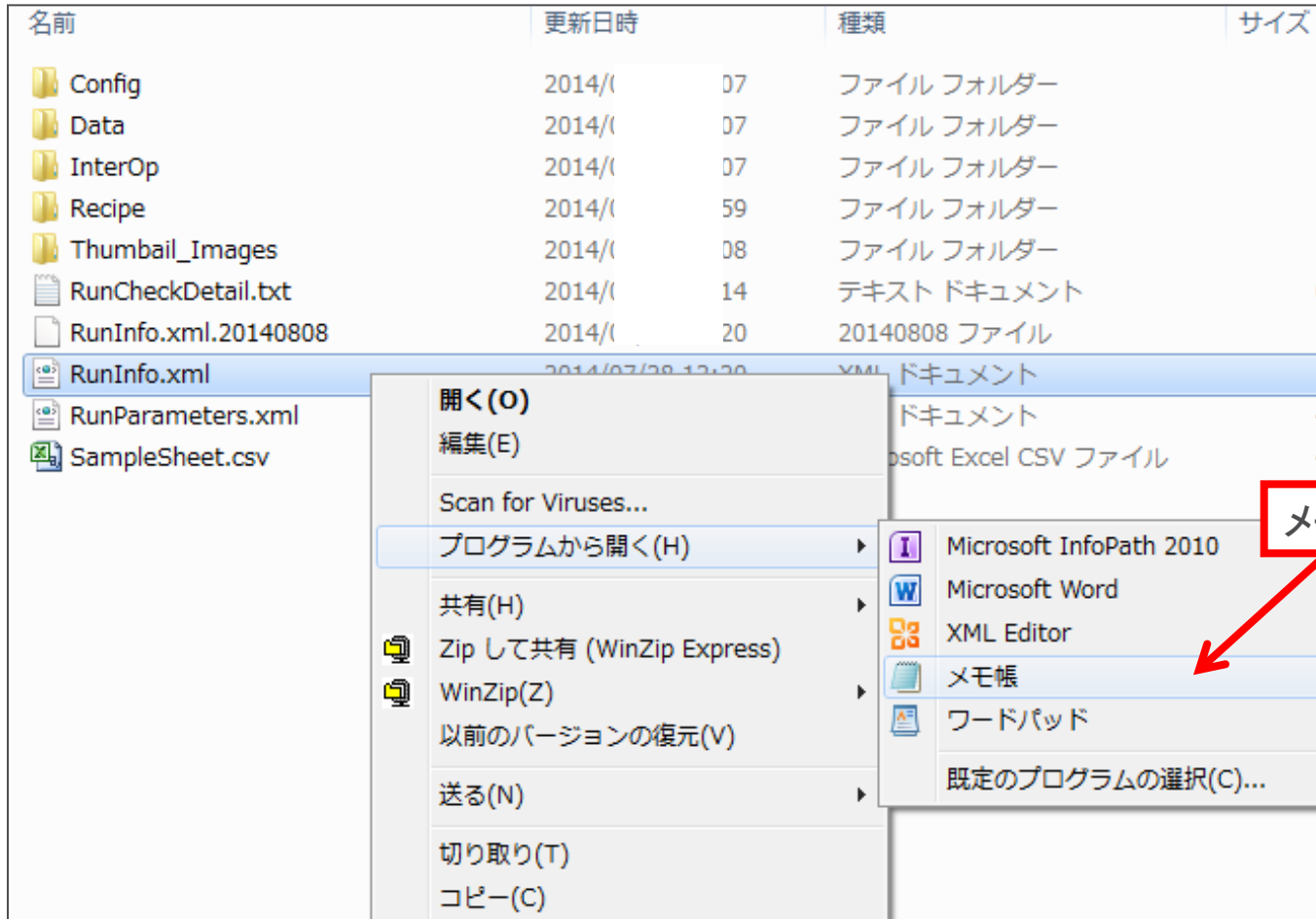
※念のため、編集を行う前に各ファイルのバックアップ(コピー)を作成しておくことを推奨する

バックアップ(コピー)

名前	更新日時	種類
Config	2014/( :07	ファイル フォルダー
Data	2014/( :07	ファイル フォルダー
InterOp	2014/( :07	ファイル フォルダー
Thumbnail_Images	2014/( :08	ファイル フォルダー
RunCheckDetail.txt	2014/( :14	テキスト ドキュメント
RunInfo.xml.20140808	2014/( :20	20140808 ファイル
RunInfo.xml	2014/( :20	XML ドキュメント
RunParameters.xml	2014/( :20	XML ドキュメント
SampleSheet.csv	2014/( :07	Microsoft Excel CSV ファイル

# ファイルの編集 – ① [RunInfo.xml]の編集 –

[RunInfo.xml]上で右クリックし、Notepad (メモ帳)などのテキストエディタで開く



# ファイルの編集 – ① [RunInfo.xml]の編集 –

[RunInfo.xml]ファイルを開くと、以下のように本来MiSeqで実施予定であったRead 1、Indexリード、およびRead 2のサイクル数の情報が記載されている。

```

RunInfo.xml - メモ帳
ファイル(F) 編集(E) 書式(O) 表示(V) ヘルプ(H)
<?xml version="1.0"?>
<RunInfo xmlns:xsd="http://www.w3.org/2001/XMLSchema" xmlns:xsi="http://www.w3.org/2001/XMLSchema-instance">
  <Run Id="121101_M00286_0001_0000000000-A1MLD" Number="0">
    <Flowcell>000000000-A1MLD</Flowcell>
    <Instrument>M00286</Instrument>
    <Date>121101</Date>
    <Reads>
      <Read NumCycles="251" Number="1" IsIndexedRead="N" />
      <Read NumCycles="251" Number="2" IsIndexedRead="N" />
    </Reads>
    <FlowcellLayout LaneCount="1" SurfaceCount="2" SwathCount="1" TileCount="14" />
  </Run>
</RunInfo>
    
```

```

<Reads>
  <Read NumCycles="XXX" Number="1" IsIndexedRead="N" />
  <Read NumCycles="Y" Number="2" IsIndexedRead="Y" />
  <Read NumCycles="ZZZ" Number="3" IsIndexedRead="N" />
</Reads>
    
```

**XXX**: Read 1のサイクル数

**Y**: Index Read 1のサイクル数

**ZZZ**: Read 2のサイクル数

# ファイルの編集 – ① [RunInfo.xml]の編集 –

編集を加え、FASTQファイルを作成する時点までの情報に書き換える

```
RunInfo.xml - メモ帳
ファイル(F) 編集(E) 書式(O) 表示(V) ヘルプ(H)
<?xml version="1.0"?>
<RunInfo xmlns:xsd="http://www.w3.org/2001/XMLSchema" xmlns:xsi="http://www.w3.org/2001/XMLSchema"
  <Run Id="121101_M00286_0001_000000000-A1MLD" Number="0">
    <Flowcell>000000000-A1MLD</Flowcell>
    <Instrument>M00286</Instrument>
    <Date>121101</Date>
    <Reads>
      <Read NumCycles="251" Number="1" IsIndexedRead="N" />
      <Read NumCycles="251" Number="2" IsIndexedRead="N" />
    </Reads>
    <FlowcellLayout LaneCount="1" SurfaceCount="2" SwathCount="1" TileCount="14" />
  </Run>
</RunInfo>
```

```
<Reads>
  <Read NumCycles="251" Number="1" IsIndexedRead="N" />
  <Read NumCycles="251" Number="3" IsIndexedRead="N" />
</Reads>
```

Read 1: 251-サイクル  
 Read 2: 251-サイクル  
 Index Read: 無し

Read 1の157-サイクル目で  
 ランが停止

```
RunInfo.xml - メモ帳
ファイル(F) 編集(E) 書式(O) 表示(V) ヘルプ(H)
<?xml version="1.0"?>
<RunInfo xmlns:xsd="http://www.w3.org/2001/XMLSchema" xmlns:xsi="http://www.w3.org/2001/XMLSchema"
  <Run Id="121101_M00286_0001_000000000-A1MLD" Number="0">
    <Flowcell>000000000-A1MLD</Flowcell>
    <Instrument>M00286</Instrument>
    <Date>121101</Date>
    <Reads>
      <Read NumCycles="157" Number="1" IsIndexedRead="N" />
    </Reads>
    <FlowcellLayout LaneCount="1" SurfaceCount="2" SwathCount="1" TileCount="14" />
  </Run>
</RunInfo>
```

Read 1: 157-サイクル  
 Read 2: 無し  
 Index Read: 無し

1x157のシングリードでランを  
 実施したように内容を編集し、  
 Read 1の157サイクルまでの  
 データでFASTQファイルを作  
 成させるよう設定

```
<Reads>
  <Read NumCycles="157" Number="1" IsIndexedRead="N" />
</Reads>
```

# ファイルの編集 – ① [RunInfo.xml]の編集 –

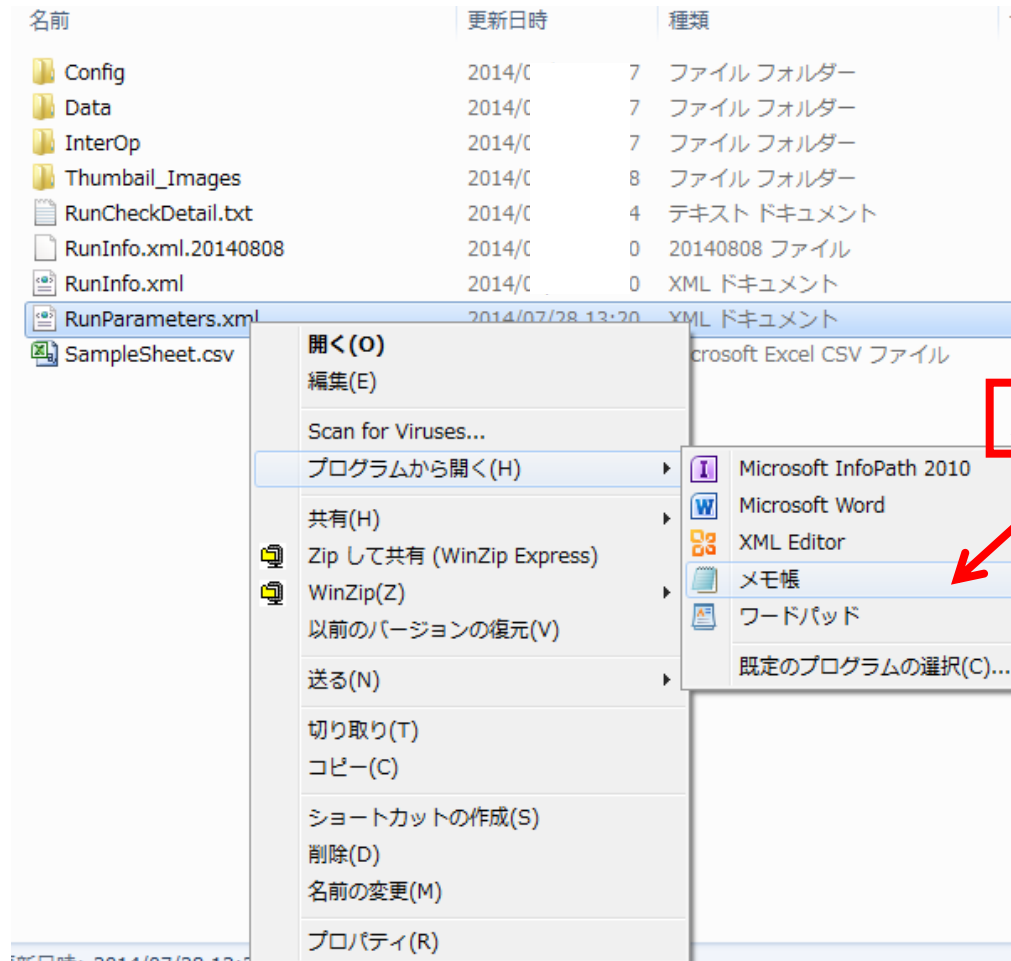
編集が終わったら、[RunInfo.xml]ファイルを上書き保存して閉じる。

```

RunInfo.xml - メモ帳
ファイル(F) 編集(E) 書式(O) 表示(V) ヘルプ(H)
<?xml version="1.0"?>
<RunInfo xmlns:xsd="http://www.w3.org/2001/XMLSchema" xmlns:xsi="http://www.w3.org/2001/XMLSchema-instance" xsi:schemaLocation="http://www.w3.org/2001/XMLSchema http://www.w3.org/2001/XMLSchema.xsd">
  <Run Id="121101 M00286 0001 000000000-A1MLD" Number="0">
    <Flowcell>000000000-A1MLD</Flowcell>
    <Instrument>M00286</Instrument>
    <Date>121101</Date>
    <Reads>
      <Read NumCycles="157" Number="1" IsIndexedRead="N" />
    </Reads>
    <FlowcellLayout LaneCount="1" SurfaceCount="2" SwathCount="1" TileCount="14" />
  </Run>
</RunInfo>
  
```

# ファイルの編集 — ② [RunParameters.xml]の編集 —

[RunParameters.xml]上で右クリックし、Notepad (メモ帳)などのテキストエディタで開く



# ファイルの編集 – ② [RunParameters.xml]の編集 –

[RunParameters.xml]ファイルを開くと、以下のように本来MiSeqで実施予定であったRead 1、Indexリード、およびRead 2のサイクル数の情報が記載されている。

```

RunParameters.xml - >
ファイル(F) 編集(E) 書式(O) 表示(V) ヘルプ(H)
<ReagentKitPartNumberEntered />
<ReagentKitVersion>Version2</ReagentKitVersion>
<ReagentKitBarcode>MSYYYYYYY-500V2</ReagentKitBarcode>
<PreviousPR2BottleBarcode />
<PreviousReagentKitBarcode />
<ExperimentName>Validation 2nd</ExperimentName>
<Chemistry>Default</Chemistry>
<Username>sbsuser</Username>
<Workflow>
  <Analysis>Resequencing</Analysis>
</Workflow>
<EnableAnalysis>>false</EnableAnalysis>
<Reads>
  <RunInfoRead Number="1" NumCycles="251" IsIndexedRead="N" />
  <RunInfoRead Number="2" NumCycles="251" IsIndexedRead="N" />
</Reads>
<tempFolder>D:\#Illumina\MiSeq\temp\#130Z1U_MU100X_0001_000000000#
    
```

```

<Reads>
  <Read NumCycles="XXX" Number="1" IsIndexedRead="N" />
  <Read NumCycles="Y" Number="2" IsIndexedRead="Y" />
  <Read NumCycles="ZZZ" Number="3" IsIndexedRead="N" />
</Reads>
    
```

**XXX**: Read 1のサイクル数

**Y**: Index Read 1のサイクル数

**ZZZ**: Read 2のサイクル数



# ファイルの編集 – ② [RunParameter.xml]の編集 –

編集を加え、FASTQファイルを作成する時点までの情報に書き換える

```
RunParameters.xml - >
ファイル(F) 編集(E) 書式(O) 表示(V) ヘルプ(H)
<ReagentKitPartNumberEntered />
<ReagentKitVersion>Version2</ReagentKitVersion>
<ReagentKitBarcode>MSYYYYYYY-500V2</ReagentKitBarcode>
<PreviousPR2BottleBarcode />
<PreviousReagentKitBarcode />
<ExperimentName>Validation 2nd</ExperimentName>
<Chemistry>Default</Chemistry>
<Username>sbsuser</Username>
<Workflow>
  <Analysis>Resequencing</Analysis>
</Workflow>
<EnableAnalysis>>false</EnableAnalysis>
<Reads>
  <RunInfoRead Number="1" NumCycles="251" IsIndexedRead="N" />
  <RunInfoRead Number="2" NumCycles="251" IsIndexedRead="N" />
</Reads>
<TempFolder>D:\#1\Illumina\MiSeqTemp\130210_M0100X_0001_0000000000-
```

```
<Reads>
  <Read NumCycles="251" Number="1" IsIndexedRead="N" />
  <Read NumCycles="251" Number="3" IsIndexedRead="N" />
</Reads>
```

Read 1: 251-サイクル  
Read 2: 251-サイクル  
Index Read: 無し

Read 1の157-サイクル目で  
ランが停止

1x157のシングリードでランを  
実施したように内容を編集し、  
Read 1の157サイクルまでの  
データでFASTQファイルを作  
成させるよう設定

```
RunParameters.xml - >
ファイル(F) 編集(E) 書式(O) 表示(V) ヘルプ(H)
<ReagentKitPartNumberEntered />
<ReagentKitVersion>Version2</ReagentKitVersion>
<ReagentKitBarcode>MSYYYYYYY-500V2</ReagentKitBarcode>
<PreviousPR2BottleBarcode />
<PreviousReagentKitBarcode />
<ExperimentName>Validation 2nd</ExperimentName>
<Chemistry>Default</Chemistry>
<Username>sbsuser</Username>
<Workflow>
  <Analysis>Resequencing</Analysis>
</Workflow>
<EnableAnalysis>>false</EnableAnalysis>
<Reads>
  <RunInfoRead Number="1" NumCycles="157" IsIndexedRead="N" />
</Reads>
<TempFolder>D:\#1\Illumina\MiSeqTemp\130210_M0100X_0001_0000000000-
```

Read 1: 157-サイクル  
Read 2: 無し  
Index Read: 無し

```
<Reads>
  <Read NumCycles="157" Number="1" IsIndexedRead="N" />
</Reads>
```

# ファイルの編集 – ② [RunParameters.xml]の編集 –

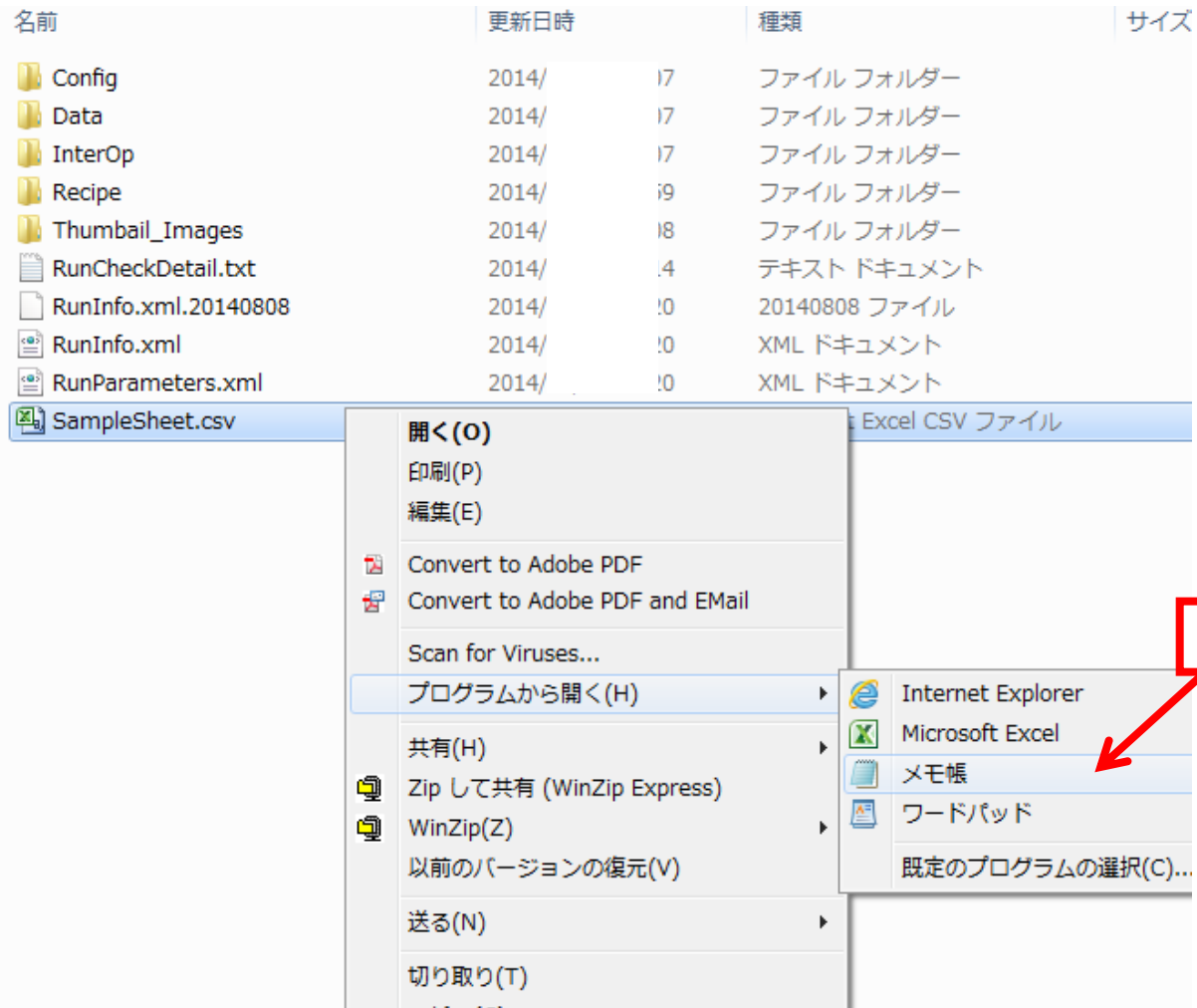
編集が終わったら、[RunParameters.xml]ファイルを上書き保存して閉じる。

```

RunParameters.xml - >
ファイル(F) 編集(E) 書式(O) 表示(V) ヘルプ(H)
<ReagentKitPartNumberEntered />
<ReagentKitVersion>Version2</ReagentKitVersion>
<ReagentKitBarcode>MSYYYYYYY-500V2</ReagentKitBarcode>
<PreviousPR2BottleBarcode />
<PreviousReagentKitBarcode />
<ExperimentName>Validation 2nd</ExperimentName>
<Chemistry>Default</Chemistry>
<Username>sbsuser</Username>
<Workflow>
  <Analysis>Resequencing</Analysis>
</Workflow>
<EnableAnalysis>>false</EnableAnalysis>
<Reads>
  <RunInfoRead Number="1" NumCycles="157" IsIndexedRead="N" />
</Reads>
<TempFolder>D:\#ITTumina\MISeq\temp\#130ZTU_MOT00X_0001_000000000-
  
```

# ファイルの編集 — ③ [SampleSheet.csv]の編集 —

[SampleSheet.csv]上で右クリックし、Notepad (メモ帳)などのテキストエディタで開く



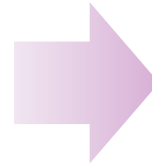
# ファイルの編集 – ③ [SampleSheet.csv]の編集 –

[本来MiSeqで実施予定であったRead 1、およびRead 2のサイクル数の情報をRunInfo.xml等と同様に書き換える。

FASTQのみが良い場合はワークフローを[GenerateFASTQ]に切り替える  
\* ワークフローをそのままにしておくと、指定したリードまでの情報を使用して解析が実施される

```
SampleSheet.csv - メモ帳
ファイル(F) 編集(E) 書式(O) 表示(V) ヘルプ(H)
[Header]
IEMFileVersion,4
Investigator Name,
Project Name,Test
Experiment Name,Validation
Date,11/1/2012
Workflow,Resequencing
Application,Resequencing
Assay,TruSeq LT
Description,
Chemistry,Default
[Reads]
251
251
[Settings]
Adapter,AGATCGGAAGAGCACACGTC
```

[Reads]以下の  
情報を書き換え



```
SampleSheet.csv - メモ帳
ファイル(F) 編集(E) 書式(O) 表示(V) ヘルプ(H)
[Header]
IEMFileVersion,4
Investigator Name,
Project Name,Test
Experiment Name,Validation
Date,11/1/2012
Workflow,GenerateFASTQ
Application,GenerateFASTQ
Assay,TruSeq LT
Description,
Chemistry,Default
[Reads]
157
[Settings]
Adapter,AGATCGGAAGAGCACACGTC
```

この部分を編集

上書き保存し、閉じる

# ファイルの編集 — ④ [RunState.xml]の編集 —

ランフォルダ直下にある[Recipe]フォルダを開く。

このフォルダを  
 準備して、中を開く

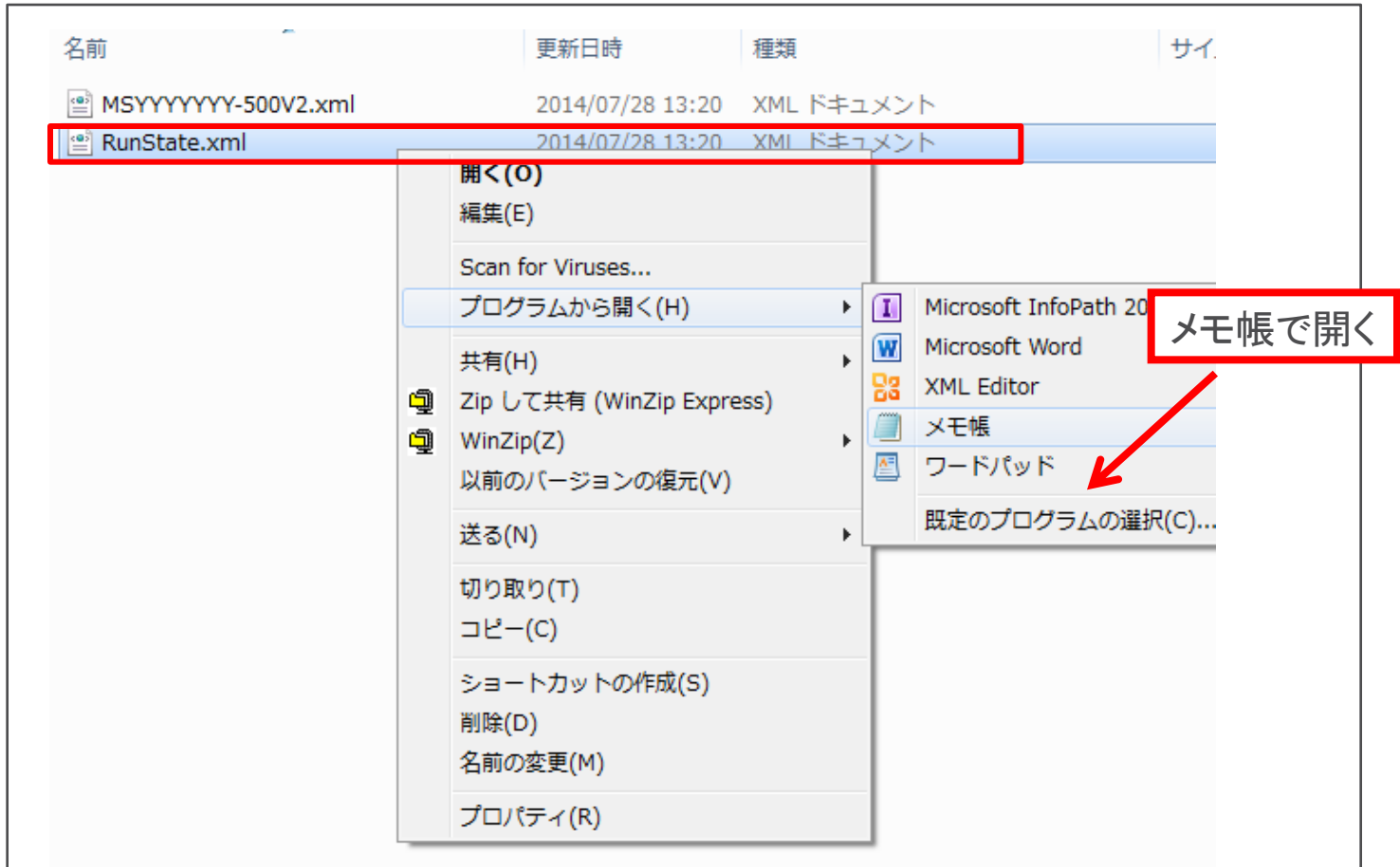
名前	更新日時	種類
Config	2014/( )7	ファイル フォルダ
Data	2014/( )7	ファイル フォルダ
InterOp	2014/( )7	ファイル フォルダ
Recipe	2014/( )19	ファイル フォルダ
Thumbnail_Images	2014/( )8	ファイル フォルダ
RunCheckDetail.txt	2014/( )14	テキスト ドキュメント
RunInfo.xml.20140808	2014/( )20	20140808 ファイル
RunInfo.xml	2014/( )20	XML ドキュメント
RunParameters.xml	2014/( )20	XML ドキュメント
SampleSheet.csv	2014/( )7	Microsoft Excel CSV ファイル

※[Recipe]フォルダが存在しないことがある。  
 [Recipe]フォルダが見当たらない場合は、別なランフォルダからコピーして持ってくる。  
 [Recipe]フォルダの内容は問わないので、コピーするのはどのランのものでも良い。

# ファイルの編集 – ④ [RunState.xml]の編集 –

[Recipe]フォルダの中には以下のファイル (<試薬カートリッジのバーコード>.xml、および RunState.xml)が収納されている。

このうちの、[RunState.xml] ファイルをNotepad (メモ帳) などのテキストエディタで開く。



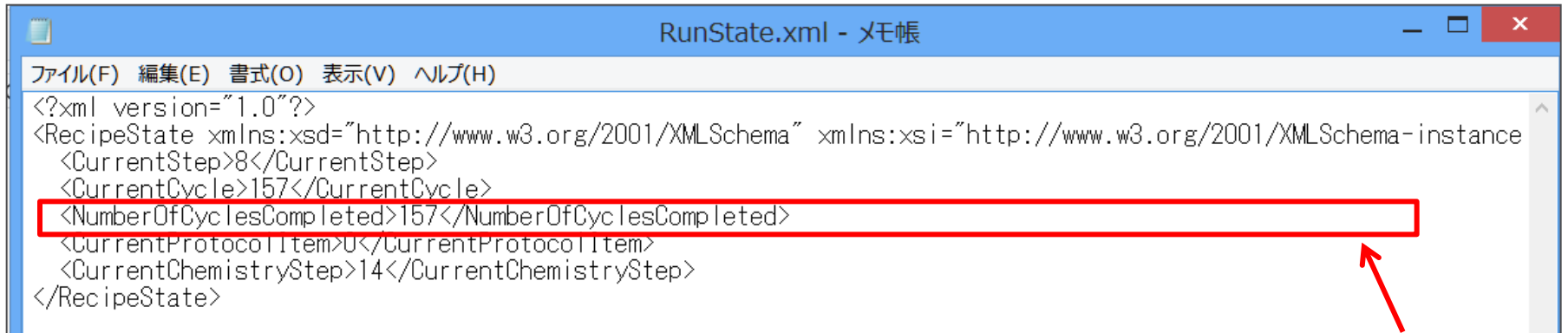
## ファイルの編集 — ④ [RunState.xml]の編集 —

以下の文章のXに該当する部分を編集する。

Xの部分には、FASTQファイルを作成させたい部分までのサイクル数を入力する。

※サイクル数には、Read 1、Read 2、Index Readのサイクル数を全て合わせた数値を入力する

```
<NumberOfCyclesCompleted>X</NumberOfCyclesCompleted>
```



```
RunState.xml - メモ帳  
ファイル(F) 編集(E) 書式(O) 表示(V) ヘルプ(H)  
<?xml version="1.0"?>  
<RecipeState xmlns:xsd="http://www.w3.org/2001/XMLSchema" xmlns:xsi="http://www.w3.org/2001/XMLSchema-instance"  
  <CurrentStep>8</CurrentStep>  
  <CurrentCycle>157</CurrentCycle>  
  <NumberOfCyclesCompleted>157</NumberOfCyclesCompleted>  
  <CurrentProtocolItem>U</CurrentProtocolItem>  
  <CurrentChemistryStep>14</CurrentChemistryStep>  
</RecipeState>
```

この部分を編集  
する

```
<NumberOfCyclesCompleted>157</NumberOfCyclesCompleted>
```

上書き保存し、閉じる

# 途中で停止してしまっただMiSeqランからのFASTQ作成方法

必要な  
ファイル  
の確認

ファイル  
の編集

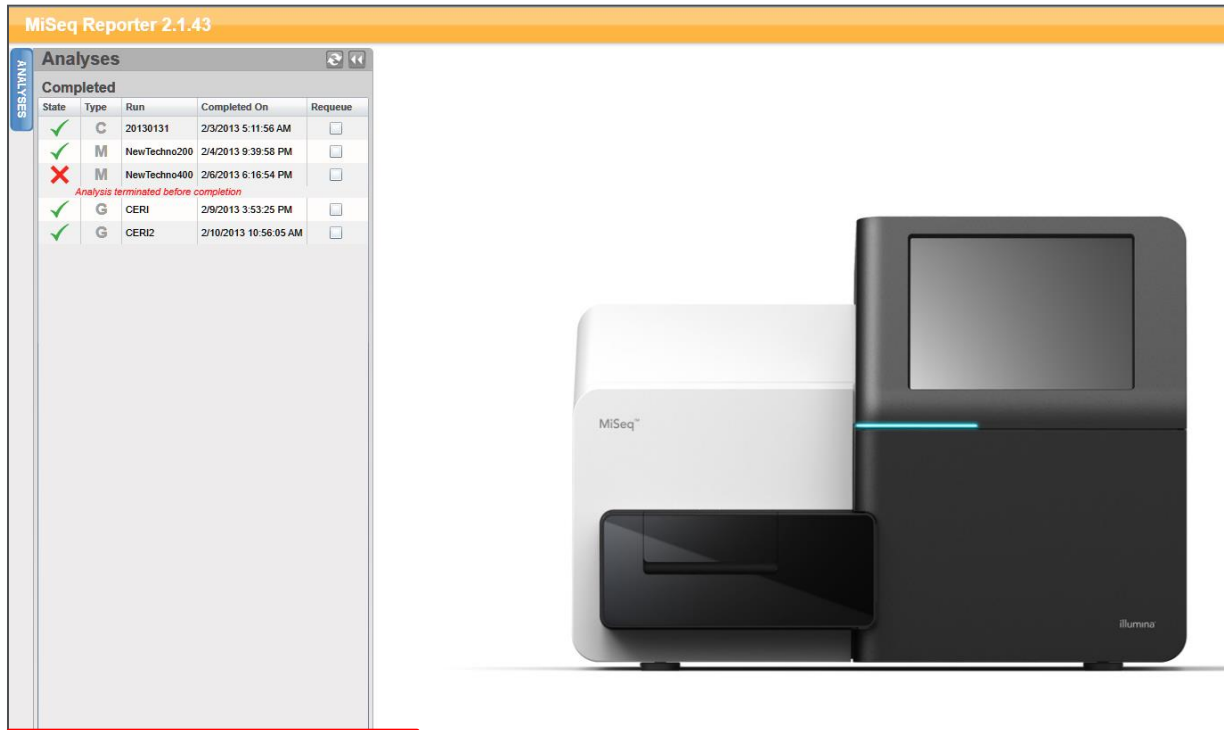
MSRでの  
リキュー

FASTQ  
の出力

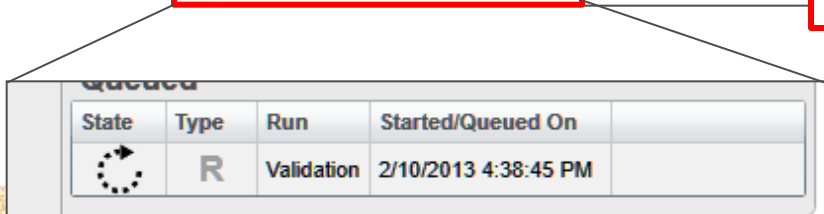


# MSRでのリキュー

編集したファイルを含むランフォルダの保存場所をMSRから参照する。

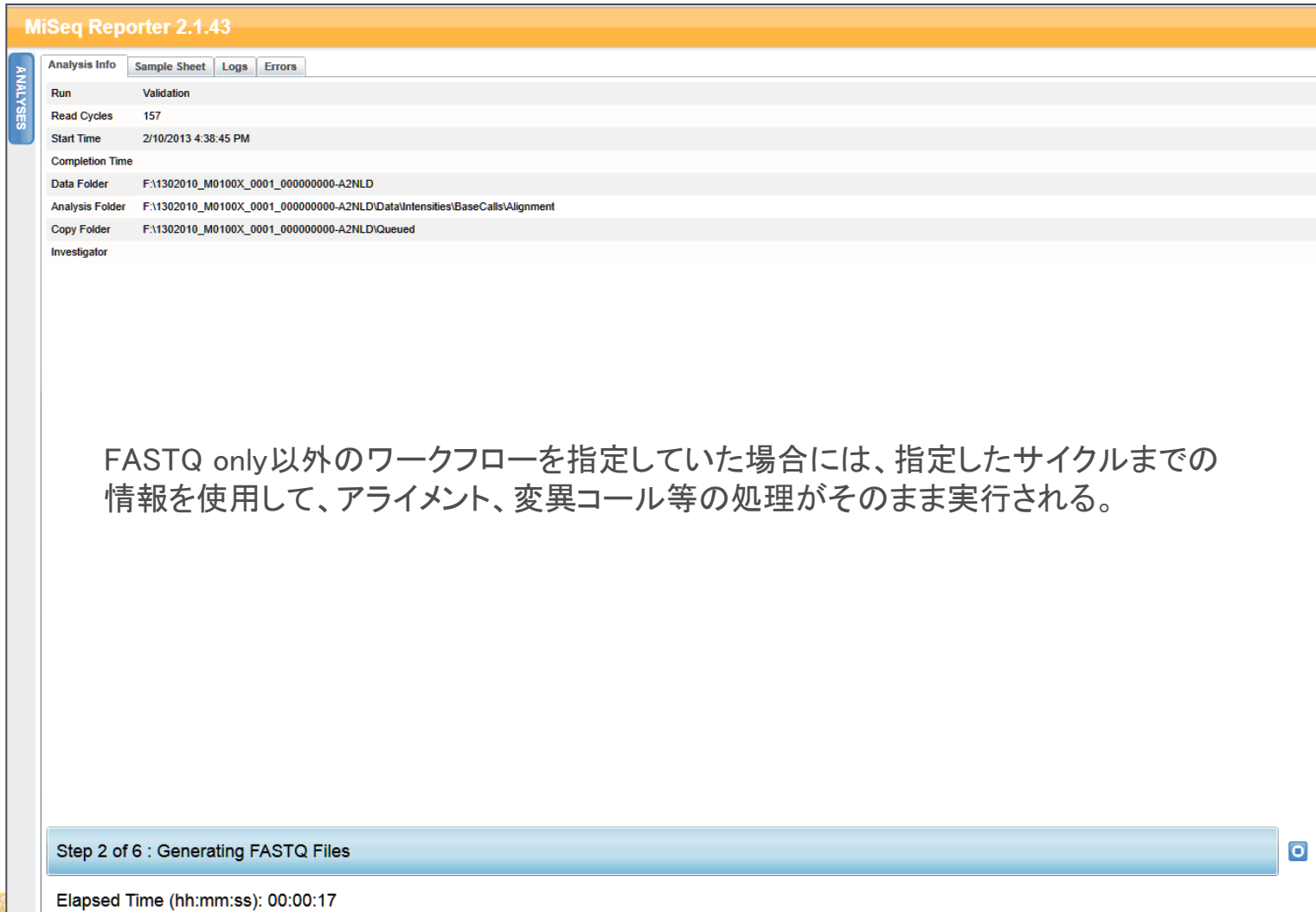


参照先を指定すると、自動的にリキューが開始され、FASTQファイルの生成が始まる。



# MSRでのリキュー

FASTQファイルの生成が始まったら、プロセスが終了するまでそのまま待つ。



The screenshot shows the MiSeq Reporter 2.1.43 interface. The top bar is orange and contains the text "MiSeq Reporter 2.1.43". Below this is a navigation bar with tabs for "Analysis Info", "Sample Sheet", "Logs", and "Errors". The "Analysis Info" tab is active. On the left side, there is a vertical sidebar with the word "ANALYSES" written vertically. The main content area displays the following information:

Run	Validation
Read Cycles	157
Start Time	2/10/2013 4:38:45 PM
Completion Time	
Data Folder	F:\1302010_M0100X_0001_000000000-A2NLD
Analysis Folder	F:\1302010_M0100X_0001_000000000-A2NLD\Data\Intensities\BaseCalls\Alignment
Copy Folder	F:\1302010_M0100X_0001_000000000-A2NLD\Queued
Investigator	

Below the table, there is a large text area with the following text:

FASTQ only以外のワークフローを指定していた場合には、指定したサイクルまでの情報を使用して、アライメント、変異コール等の処理がそのまま実行される。

At the bottom of the interface, there is a progress bar showing "Step 2 of 6 : Generating FASTQ Files" and a small square icon. Below the progress bar, the text "Elapsed Time (hh:mm:ss): 00:00:17" is displayed.

# 途中で停止してしまっただMiSeqランからのFASTQ作成方法

必要な  
ファイル  
の確認

ファイル  
の編集

MSRでの  
リキュー

FASTQ  
の出力

# FASTQの出力

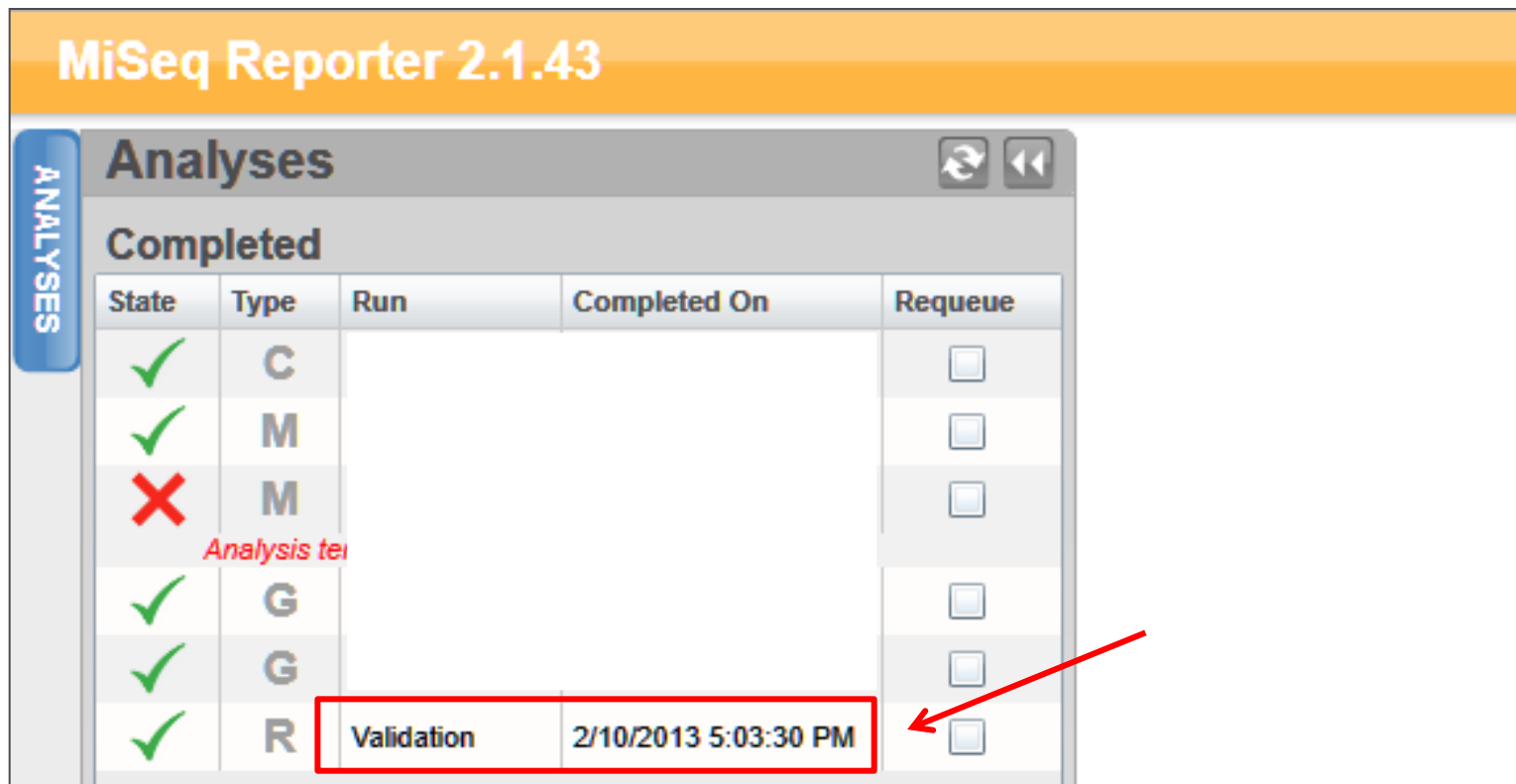
処理が完了すると、MSR上にデータ表示される。

MiSeq Reporter 2.1.43

**Analyses**

Completed

State	Type	Run	Completed On	Requeue
✓	C			<input type="checkbox"/>
✓	M			<input type="checkbox"/>
✗	M			<input type="checkbox"/>
<i>Analysis ter</i>				
✓	G			<input type="checkbox"/>
✓	G			<input type="checkbox"/>
✓	R	Validation	2/10/2013 5:03:30 PM	<input type="checkbox"/>



# FASTQの出力

ランフォルダ中の

D:\¥Illumina¥MiSeqAnalysis¥”runfolder”¥Data¥Intensities¥BaseCalls  
以下にFASTQファイルが作成されるはずなので、これを確認する。



名前	更新日時	種類	サイズ
Alignment	201	03 ファイル フォルダー	
L001	201	59 ファイル フォルダー	
Matrix	201	59 ファイル フォルダー	
Phasing	201	59 ファイル フォルダー	
config.xml	201	20 XML ドキュメント	3 KB
FastqSummaryF1L1.txt	201	47 テキスト文書	1 KB
PhiXv3_S1_L001_R1_001.fastq.gz	201	47 GZ ファイル	1,843,05...
Undetermined_S0_L001_R1_001.fas...	201	47 GZ ファイル	1 KB

作成されたFASTQファイル

# MiSeqのランのトラブルシューティングについて

サポートウェビナーシリーズ2014

2014/07/11

トラブルシューティング編  
「NGS困ったときのお助けツールキット  
《Online trouble shooting》」

サポートウェビナーシリーズ2014

2014/07/25

トラブルシューティング編  
「MiSeqでフォーカスエラーが出た！どうしたら良い？」

トラブルシューティング編：  
困ったときのお助けツール「Online Troubleshooting」

July 11, 2014



崎川 真里  
イルミナ株式会社  
アソシエイトテクニカルアプリケーションサイエンティスト

© 2014 Illumina, Inc. All rights reserved.  
Illumina, Illuminaseq, Illuminaseq Desktop, Illuminaseq Desktop 2, Illuminaseq Desktop 3, Illuminaseq Desktop 4, Illuminaseq Desktop 5, Illuminaseq Desktop 6, Illuminaseq Desktop 7, Illuminaseq Desktop 8, Illuminaseq Desktop 9, Illuminaseq Desktop 10, Illuminaseq Desktop 11, Illuminaseq Desktop 12, Illuminaseq Desktop 13, Illuminaseq Desktop 14, Illuminaseq Desktop 15, Illuminaseq Desktop 16, Illuminaseq Desktop 17, Illuminaseq Desktop 18, Illuminaseq Desktop 19, Illuminaseq Desktop 20, Illuminaseq Desktop 21, Illuminaseq Desktop 22, Illuminaseq Desktop 23, Illuminaseq Desktop 24, Illuminaseq Desktop 25, Illuminaseq Desktop 26, Illuminaseq Desktop 27, Illuminaseq Desktop 28, Illuminaseq Desktop 29, Illuminaseq Desktop 30, Illuminaseq Desktop 31, Illuminaseq Desktop 32, Illuminaseq Desktop 33, Illuminaseq Desktop 34, Illuminaseq Desktop 35, Illuminaseq Desktop 36, Illuminaseq Desktop 37, Illuminaseq Desktop 38, Illuminaseq Desktop 39, Illuminaseq Desktop 40, Illuminaseq Desktop 41, Illuminaseq Desktop 42, Illuminaseq Desktop 43, Illuminaseq Desktop 44, Illuminaseq Desktop 45, Illuminaseq Desktop 46, Illuminaseq Desktop 47, Illuminaseq Desktop 48, Illuminaseq Desktop 49, Illuminaseq Desktop 50, Illuminaseq Desktop 51, Illuminaseq Desktop 52, Illuminaseq Desktop 53, Illuminaseq Desktop 54, Illuminaseq Desktop 55, Illuminaseq Desktop 56, Illuminaseq Desktop 57, Illuminaseq Desktop 58, Illuminaseq Desktop 59, Illuminaseq Desktop 60, Illuminaseq Desktop 61, Illuminaseq Desktop 62, Illuminaseq Desktop 63, Illuminaseq Desktop 64, Illuminaseq Desktop 65, Illuminaseq Desktop 66, Illuminaseq Desktop 67, Illuminaseq Desktop 68, Illuminaseq Desktop 69, Illuminaseq Desktop 70, Illuminaseq Desktop 71, Illuminaseq Desktop 72, Illuminaseq Desktop 73, Illuminaseq Desktop 74, Illuminaseq Desktop 75, Illuminaseq Desktop 76, Illuminaseq Desktop 77, Illuminaseq Desktop 78, Illuminaseq Desktop 79, Illuminaseq Desktop 80, Illuminaseq Desktop 81, Illuminaseq Desktop 82, Illuminaseq Desktop 83, Illuminaseq Desktop 84, Illuminaseq Desktop 85, Illuminaseq Desktop 86, Illuminaseq Desktop 87, Illuminaseq Desktop 88, Illuminaseq Desktop 89, Illuminaseq Desktop 90, Illuminaseq Desktop 91, Illuminaseq Desktop 92, Illuminaseq Desktop 93, Illuminaseq Desktop 94, Illuminaseq Desktop 95, Illuminaseq Desktop 96, Illuminaseq Desktop 97, Illuminaseq Desktop 98, Illuminaseq Desktop 99, Illuminaseq Desktop 100.

illumina®

トラブルシューティング編：  
MiSeqでフォーカスエラーが出た！どうしたら良い？

July 25, 2014



小林 孝史  
イルミナ株式会社テクニカルサポート部  
テクニカルアプリケーションサイエンティスト

© 2014 Illumina, Inc. All rights reserved.  
Illumina, Illuminaseq, Illuminaseq Desktop, Illuminaseq Desktop 2, Illuminaseq Desktop 3, Illuminaseq Desktop 4, Illuminaseq Desktop 5, Illuminaseq Desktop 6, Illuminaseq Desktop 7, Illuminaseq Desktop 8, Illuminaseq Desktop 9, Illuminaseq Desktop 10, Illuminaseq Desktop 11, Illuminaseq Desktop 12, Illuminaseq Desktop 13, Illuminaseq Desktop 14, Illuminaseq Desktop 15, Illuminaseq Desktop 16, Illuminaseq Desktop 17, Illuminaseq Desktop 18, Illuminaseq Desktop 19, Illuminaseq Desktop 20, Illuminaseq Desktop 21, Illuminaseq Desktop 22, Illuminaseq Desktop 23, Illuminaseq Desktop 24, Illuminaseq Desktop 25, Illuminaseq Desktop 26, Illuminaseq Desktop 27, Illuminaseq Desktop 28, Illuminaseq Desktop 29, Illuminaseq Desktop 30, Illuminaseq Desktop 31, Illuminaseq Desktop 32, Illuminaseq Desktop 33, Illuminaseq Desktop 34, Illuminaseq Desktop 35, Illuminaseq Desktop 36, Illuminaseq Desktop 37, Illuminaseq Desktop 38, Illuminaseq Desktop 39, Illuminaseq Desktop 40, Illuminaseq Desktop 41, Illuminaseq Desktop 42, Illuminaseq Desktop 43, Illuminaseq Desktop 44, Illuminaseq Desktop 45, Illuminaseq Desktop 46, Illuminaseq Desktop 47, Illuminaseq Desktop 48, Illuminaseq Desktop 49, Illuminaseq Desktop 50, Illuminaseq Desktop 51, Illuminaseq Desktop 52, Illuminaseq Desktop 53, Illuminaseq Desktop 54, Illuminaseq Desktop 55, Illuminaseq Desktop 56, Illuminaseq Desktop 57, Illuminaseq Desktop 58, Illuminaseq Desktop 59, Illuminaseq Desktop 60, Illuminaseq Desktop 61, Illuminaseq Desktop 62, Illuminaseq Desktop 63, Illuminaseq Desktop 64, Illuminaseq Desktop 65, Illuminaseq Desktop 66, Illuminaseq Desktop 67, Illuminaseq Desktop 68, Illuminaseq Desktop 69, Illuminaseq Desktop 70, Illuminaseq Desktop 71, Illuminaseq Desktop 72, Illuminaseq Desktop 73, Illuminaseq Desktop 74, Illuminaseq Desktop 75, Illuminaseq Desktop 76, Illuminaseq Desktop 77, Illuminaseq Desktop 78, Illuminaseq Desktop 79, Illuminaseq Desktop 80, Illuminaseq Desktop 81, Illuminaseq Desktop 82, Illuminaseq Desktop 83, Illuminaseq Desktop 84, Illuminaseq Desktop 85, Illuminaseq Desktop 86, Illuminaseq Desktop 87, Illuminaseq Desktop 88, Illuminaseq Desktop 89, Illuminaseq Desktop 90, Illuminaseq Desktop 91, Illuminaseq Desktop 92, Illuminaseq Desktop 93, Illuminaseq Desktop 94, Illuminaseq Desktop 95, Illuminaseq Desktop 96, Illuminaseq Desktop 97, Illuminaseq Desktop 98, Illuminaseq Desktop 99, Illuminaseq Desktop 100.

illumina®

イルミナサポートウェビナー([http://www.illumina.co.jp/events/webinar\\_japan.ilmn?ws=ss](http://www.illumina.co.jp/events/webinar_japan.ilmn?ws=ss))