

## PhiX を用いた検証ランの実施方法 (iSeq™ 100)

本資料では、PhiX controlライブラリーを用いた検証ラン（バリデーションラン）の実施方法をまとめております。

普段該当装置でシーケンスランを行っているお客様で、100% PhiXによる検証ランを行ったことがない方向けの資料となっており、PhiX controlライブラリーのロード前の準備方法と、ランの設定法についてご案内します。該当装置用のラン試薬（Reagent Cartridge、Flow cellなど）の取り扱いは通常のランから変更ありません。該当装置のシステムガイドをご参照ください。

[システムガイド] iSeq 100 System Support

[https://jp.support.illumina.com/sequencing/sequencing\\_instruments/iseq-100/documentation.html](https://jp.support.illumina.com/sequencing/sequencing_instruments/iseq-100/documentation.html)

<本資料の内容>

### 1. PhiX controlライブラリーの希釈方法

- (1) 必要試薬および消耗品 … p. 2
- (2) 試薬の事前準備 … p. 2
- (3) PhiX controlライブラリーの希釈方法 … p. 2

### 2. シーケンスランの設定方法

- LRMを用いた方法 … p. 4

\*最新の情報はイllumina社 WEB サイト (<https://jp.illumina.com/>) でご確認ください。



## 1. PhiX controlライブラリーの希釈方法

iSeq 100でのシーケンスに使用するPhiX controlライブラリーの希釈方法についてご案内します。

### (1) 必要試薬および消耗品

準備品	サプライヤー	備考
PhiX Control Kit v3 (FC-110-3001)	Illumina	FC-110-3002内PhiXでも代用可
Resuspension Buffer (RSB)	Illumina (ライブラリー 一調製試薬に付属)	10 mM Tris-HCl, pH 8.5でも代用可
iSeq 100 i1 Reagent Kit (300-cycle)	Illumina	

### (2) 試薬の事前準備

#### a. iSeq 100試薬カートリッジの準備

・解凍作業を未実施の場合は、iSeq 100システムガイドに従って、試薬カートリッジの解凍等の準備を行う。

#### b. (オプション) PhiX controlライブラリーの定量

・PhiX controlライブラリーの濃度確認のため、二本鎖DNA特異的蛍光法を使用して定量する。

### (3) PhiX controlライブラリーの希釈方法

#### a. PhiXを1 nMに希釈する

- 以下の分量で溶液を混合し、1 nM PhiX溶液を12  $\mu$ L調製する。
  - 10 nM PhiX controlライブラリー (1.2  $\mu$ L)
  - RSB (10.8  $\mu$ L)
- 1 nM PhiX溶液をボルテックスで軽く攪拌した後、スピンドウンする。

\*1 nM PhiX溶液は、-20°Cの冷凍庫で最長1か月まで保存可能です。

#### b. 最終ローディング濃度への希釈

- 以下の分量で溶液を混合し、PhiXライブラリーを100 pMに希釈する。
  - 1 nM PhiX溶液 (10  $\mu$ L)
  - RSB (90  $\mu$ L)
- 100 pM PhiX溶液をボルテックスで軽く攪拌した後、スピンドウンする。
- 希釈したライブラリーはシーケンス開始まで氷上に静置する。

\*希釈済み100 pM PhiX溶液は当日中に使用して下さい。

iSeq™ 100用：PhiXを用いた検証ランの実施方法

**c. 試薬カートリッジへのロード**

1. 100 pM PhiX溶液20 µLを試薬カートリッジにロードする。

\*希釈済みPhiX溶液20 µLのロード等の方法については、[iSeq 100システムガイド](#)をご参照ください。

[参考リンク] [iSeq 100 Sequencing System Guide](#)

(1. PhiX control ライブラリーの希釈方法、以上)

## 2. シーケンスランの設定方法

PhiX controlライブラリーを用いた、バリデーションランの設定方法についてご案内します。

iSeq 100 Control Softwareのバージョンによって、可能なラン設定方法が異なる場合がありますが、本資料では、iSeq 100 Control Software v2.0 およびv3.0で設定可能な、LRM (Local Run Manager) v2.4での設定手順をご案内します。

\*Read 1が26サイクル以上、かつサイクル数の合計が、使用するReagent kitの最大サイクル数を超えないラン設定である必要があります。

[参考リンク：Bulletin] [How many cycles of SBS chemistry are in my kit?](#)

### ● LRMを用いた方法

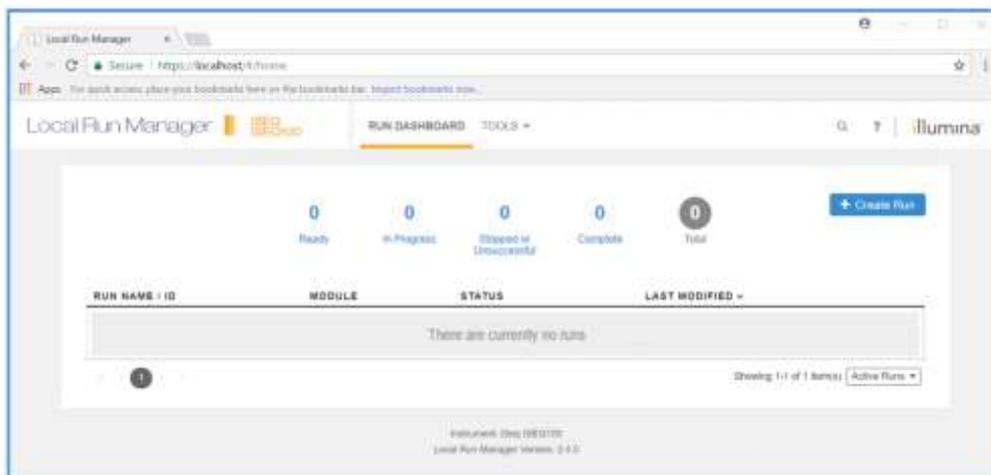
\*普段LRMを用いない方法でランを行っている方は、iSeq control software のメニュー内「System Settings」内の項目、「Local Run Manager」から、「Use Local Run Manager」にチェックを入れ、装置の設定を変更してから下記の手順でお進みください。

#### a. LRMの起動

1. iSeq 100装置上で、以下のいずれかの方法でLRMのダッシュボードを開く。

- ・コントロールソフトウェアメニューから「Local Run Manager」を選択し、「Open Local Run Manager」を選択する。
- ・Chromiumブラウザを起動し、アドレスバーに「<https://localhost>」と入力。あるいは、ブックマークに「Local Run Manager (LRM)」があれば、そちらをクリック。

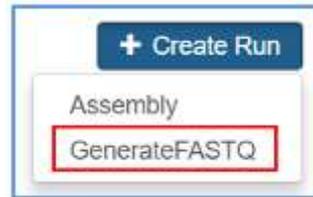
\*LRMでユーザー管理が有効になっている場合、最初にログインページが表示され、ユーザー ID とパスワードの入力が求められます。



\*画像はLRM v2.4のもので、装置やバージョンによって細部に違いがございます。

#### b. LRM上でのランの作成

1. 「Create Run」を選択し、ドロップダウンリストから「Generate FASTQ」を選択。



2. Create Runの画面で下記の内容を入力。

\* 画面上部、Run settingsまでには以下のようにご入力ください。

- Run Name : 適当な名前を入力 (例 : 日付-PhiXrunなど)
- Library Prep kit : Customを選択
- **Index Reads : 0を選択 (\* 重要)**
- Read Type : Paired End
- Read Lengths : READ 1=151, READ 2=151

\* 他の項目、画面中央のModule-Specific Settingsに関しては、デフォルト、あるいは空欄のまま問題ありません。

\* 画面下部、SAMPLE IDの表は、一行目に「PhiX」と入力してください。他は空欄のまま問題ありません。

\* Custom Primersを選択できるバージョンであっても、チェックをいれないでおく必要があります。

3. 画面右下の「Save Run」をクリックし、上記ラン設定を保存する。

4. LRMのダッシュボードに、2.で作成したRun IDが表示されていることを確認し、ブラウザを閉じる。

## iSeq™ 100用 : PhiXを用いた検証ランの実施方法

- \*以降、LRMを使用したシーケンスランの開始法は、iSeq 100システムガイドをご参照ください。
- \*Manualモードでラン設定されたい方は、本文書末にありますテクニカルサポートまでお問い合わせください。

[参考リンク] [iSeq 100 Sequencing System Guide](#)

[参考リンク] [Local Run Manager: How to set up a PhiX validation run](#)

(2. シーケンスランの設定方法、以上)

本資料に関しましてご不明な点等がございましたら、テクニカルサポートまでお気軽にご相談ください。

Tech Support: [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

Website: [jp.illumina.com](http://jp.illumina.com)

テクニカルサポート直通 フリーダイヤル: 0800-111-5011 (平日 9:00-17:00)

2024年2月

イルミナ株式会社サービス・サポート部