

# NGSをはじめよう！

## Nextera Rapid Capture エクソームキットを用いたエクソームシーケンス - ウェット編 -

April 24, 2015



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нтиスト

© 2014 Illumina, Inc. All rights reserved. Illumina, 24sure, BaseSpace, BeadArray, BlueFish, BlueFuse, BlueGnome, cBot, CSPro, CytoChip, DesignStudio, Epicentre, GAllx, 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

- ▶ Nextera Rapid Capture エクソームキットの特徴
- ▶ ライブラリーの調製方法



# Nextera Rapid Capture エクソームキットの特徴

- ▶ プローブセットは214,405ものエクソンを濃縮するよう設計
- ▶ 専門家が選択した37Mbのエクソン領域をターゲット
- ▶ 様々なサンプルサイズの実験に対応したキット (1,3,6,9,12)
- ▶ サンプル調製からシーケンス、データ解析までイルミナが  
トータルサポート

2015年5月15日

NGSをはじめよう！ Nextera Rapid Capture エクソームキットを用いた  
エクソームシーケンス - ドライ編 -

# 1ランに実施可能なサンプル数は？ 必要なカバレッジは？

NGSをはじめよう！  
NextSeqで何ができるのか？

2015/04/10

イルミナ株式会社 テクニカル アプリケーション サイエンティスト  
崎川真里

NGSをはじめよう！  
NextSeq500で何ができるのか？

April 10, 2015



崎川 真里  
イルミナ株式会社  
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, iScan, BaseSpace, BaseAnalyzer, Bluefish, BlueFuse, BlueGenome, eShot, CDP+, CytoChip, DesignStudio, EpiCentre, GATK, Genetix Energy, Genome Analyzer, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, HiSeq X, Infinium, iScan, iSeq, NextSeq, NextSeq 500, MiSeq, MiSeq Dx, NextSeq, Nextera, NextSeq, powered by Illumina, SingleShot, SureSelect, TruSight, TruSight, TruSight, Understand Your Genome, UVO, 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®

リンク：[http://www.illumina.co.jp/events/webinar\\_japan.ilmn](http://www.illumina.co.jp/events/webinar_japan.ilmn)

# サンプル調製から解析までのワークフロー



<二次解析>

NGSをはじめよう！

**Nextera Rapid Capture** エクソームキットを用いたエクソームシーケンス –ドライ編–

2015/05/15

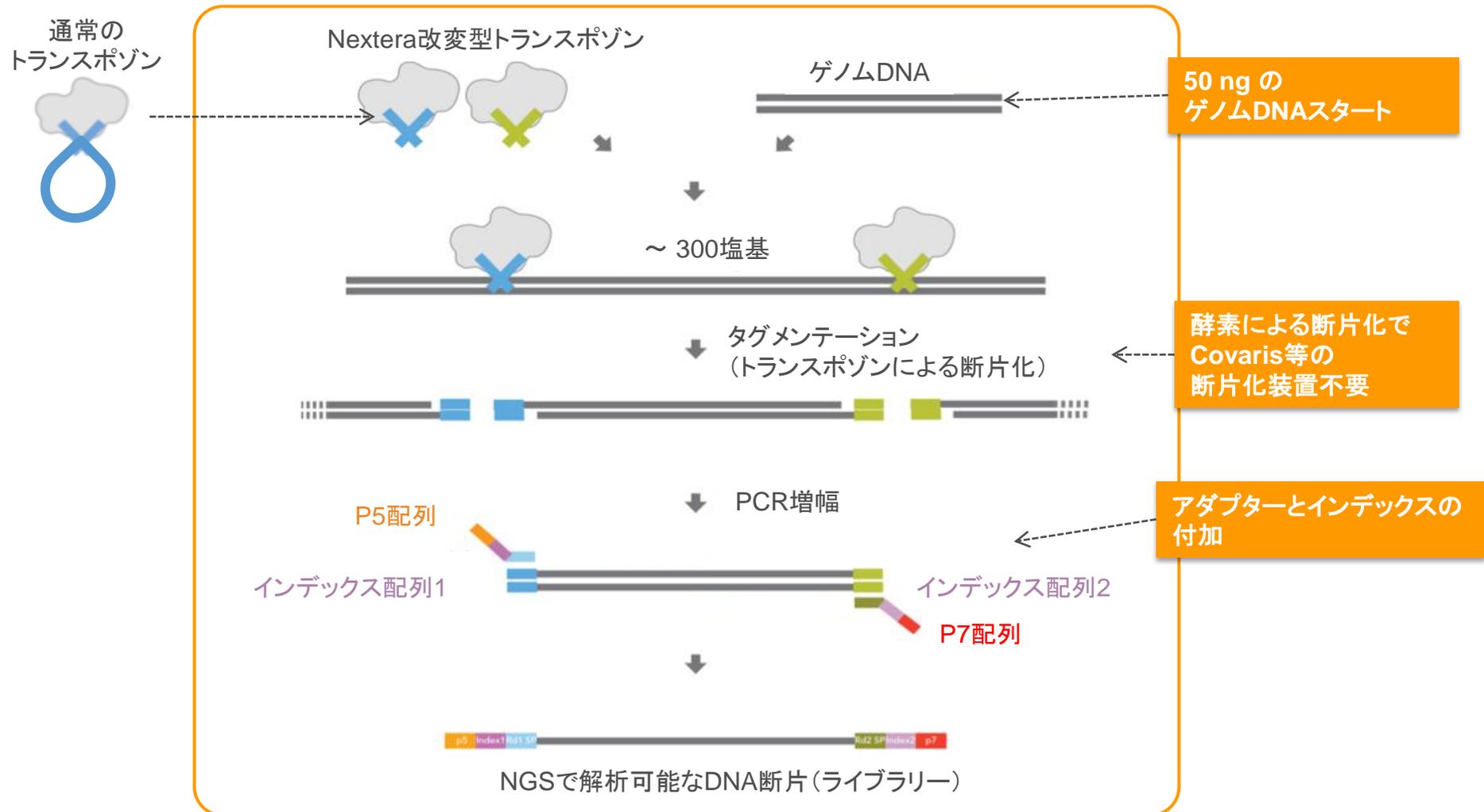
イルミナ株式会社 バイオインフォマティクス サポート サイエントリスト

癸生川 絵里

# ライブラリー調製のワークフロー

## ステップ 1: Nexteraライブラリーステップ

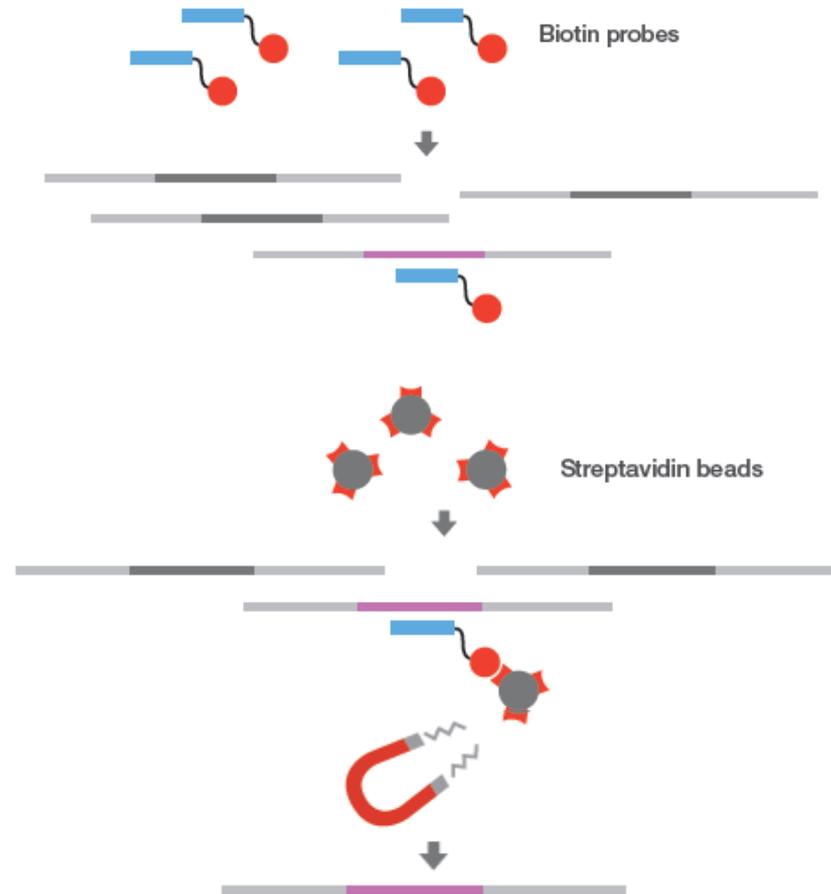
1ステップで断片化およびアダプターとインデックスの付加を実施



# ライブラリー調製のワークフロー

## ステップ2: ターゲットDNAの濃縮ステップ

ビオチン化プローブはターゲット領域のハイブリダイズした後、ストレプトアビジンビーズでキャプチャーを行う

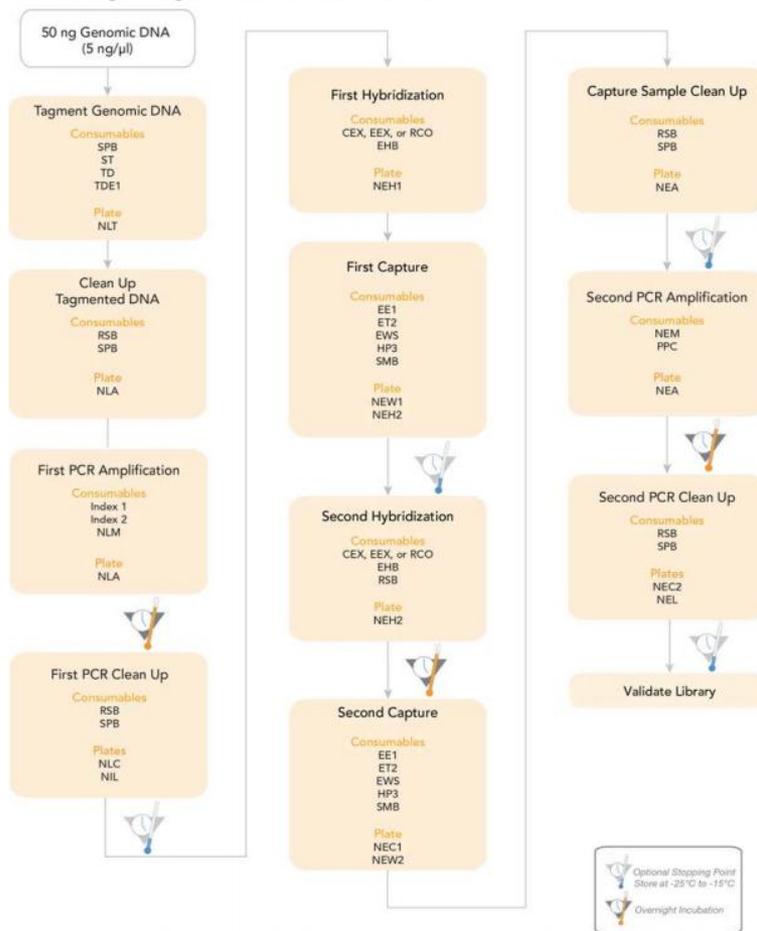


# ワークフロー 概要

## Library Prep Workflow

The following diagram illustrates the workflow using a Nextera Rapid Capture Enrichment kit. Safe stopping points are marked between steps.

Figure 1 Nextera Rapid Capture Enrichment Workflow



# 消耗品・装置

ユーザーガイド Consumables and Equipment をご確認ください。

[http://support.illumina.com/downloads/nextera\\_rapid\\_capture\\_guide\\_15037436.html](http://support.illumina.com/downloads/nextera_rapid_capture_guide_15037436.html)

## Supporting Information

### Consumables and Equipment

Check to make sure that you have all of the necessary user-supplied consumables and equipment before proceeding to the library preparation and enrichment procedures.



**NOTE**  
The Nextera Rapid Capture Enrichment protocol has been optimized and validated using the items listed. Comparable performance is not guaranteed when using alternate consumable and equipment.

Table 6 User-Supplied Consumables

| Consumable                                                                                                                  | Supplier                             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| 1.7 ml microcentrifuge tubes                                                                                                | General lab supplier                 |
| 20 µl barrier pipette tips                                                                                                  | General lab supplier                 |
| 20 µl multichannel pipettes                                                                                                 | General lab supplier                 |
| 20 µl single channel pipettes                                                                                               | General lab supplier                 |
| 200 µl barrier pipette tips                                                                                                 | General lab supplier                 |
| 200 µl multichannel pipettes                                                                                                | General lab supplier                 |
| 200 µl single channel pipettes                                                                                              | General lab supplier                 |
| 1000 µl barrier pipette tips                                                                                                | General lab supplier                 |
| 1000 µl multichannel pipettes                                                                                               | General lab supplier                 |
| 1000 µl single channel pipettes                                                                                             | General lab supplier                 |
| Adhesive seal roller                                                                                                        | General lab supplier                 |
| 96-well flat clear bottom black microplates<br>Note: Used when quantifying samples with a SpectraMax M5 spectrofluorometer. | Corning, part # 3904                 |
| 96-well storage plates, round well,<br>0.8 ml ("MIDI" plate)                                                                | Fisher Scientific,<br>part # AB-0859 |

# ステップ1 Nexteraライブラリーステップ

- ▶ インプットDNAは50 ngを厳守
- ▶ 二本鎖DNA (dsDNA) に固有の蛍光定量ベースの方法を使用して
- ▶ O.D. 260/280 = 1.8 – 2.0 程度の純度のDNAを推奨



Copyright © 2015 Thermo Fisher Scientific Inc. Used under permission.

Qubit® 2.0 Fluorometer

<https://icom.illumina.com/MyIllumina/Bulletin/QqttpskaC0ywyI9co83qXg/considerations-for-dna-isolation-when-using-nexter>

- インプットDNA をTris-HCl 10 mM、pH 8.5 で10 ng/μl に正規化
- 10 ng/μl の正規化されたサンプルを、同じ蛍光定量法を使用して再定量
- gDNA サンプルをTris-HCl 10 mM、pH 8.5 でさらに希釈して、最終的な量を5 ng/μl で10 μl (合計50 ng) に調製

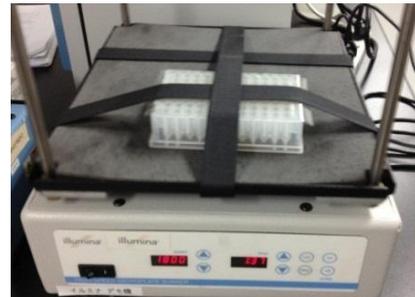
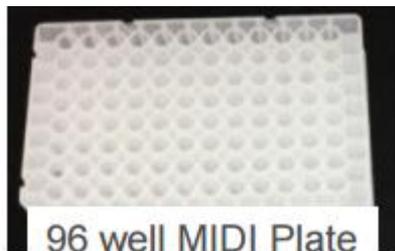
# ステップ1 Nexteraライブラリーステップ

## タグメンテーション

- ▶ 10 ulの5ng/ulのDNA (50 ng)を96ウェルMIDIプレートに分注し、タグメンテーション反応用の試薬を各ウェルに加える (全量50 ul)

| 試薬                   | 容量    |
|----------------------|-------|
| 5ng/ul input DNA     | 10 ul |
| Tagment DNA Buffer   | 25 ul |
| Tagment DNA Enzyme 1 | 15 ul |

- ▶ MIDIプレートをMicroseal 'B'でシールし、プレートシェーカーで1分間攪拌



プレートシェーカー

# ステップ1 Nexteraライブラリーステップ

## タグメンテーション

- ▶ MIDIプレートを280 × gで1分間遠心ののち、58°CのMicroheating Systemで10分間インキュベート
- ▶ 15 ulのStop Tagment Buffer (ST)をプレートの各ウェルに分注する。
- ▶ MIDIプレートをMicroseal 'B'でシールし、プレートシェーカーで1分間攪拌
- ▶ MIDIプレートを280 × gで1分間遠心ののち室温で4分間インキュベート

### <Best Practice>

- Stop Tagment Bufferは沈殿を生じやすいので、使用前に完全に溶解していることを確認
- Microseal 'B'はバイオラッド社の型番MSB1001をご使用いただくことを推奨
- 58°CのインキュベートのステップはMicroheating System (SciGene)の使用を推奨

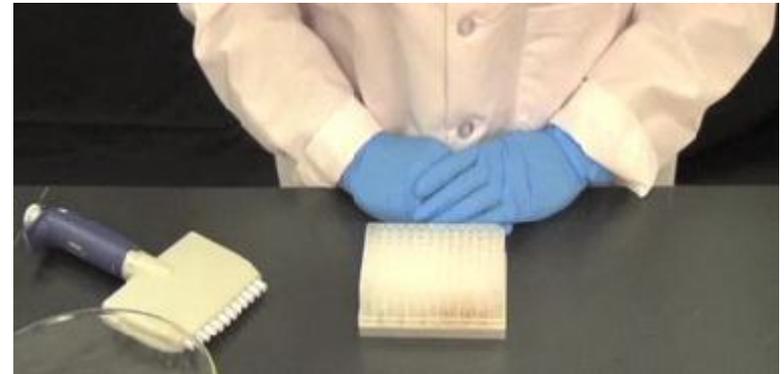


# ステップ1 Nexteraライブラリーステップ

タグメンテーション

精製

- ▶ あらかじめよく攪拌した65 ulのSample Purification Beads (SPB)をプレートの各ウェルに分注
- ▶ MIDIプレートをMicroseal 'B'でシールし、プレートシェーカーで1分間攪拌
- ▶ MIDIプレートを室温で8分間インキュベート
- ▶ MIDIプレートを280 × gで1分間遠心ののち、シールを取り除く
- ▶ 磁気スタンド上にプレートを2分間(または、溶液が濁っている場合は透明になるまで)置く
- ▶ 磁気スタンド上でビーズを集め、上清130 uLを捨てる
- ▶ 200 ulの80%エタノールで洗浄する作業を2回繰り返す。



# ステップ1 Nexteraライブラリーステップ

タグメンテーション

精製

- ▶ MIDIプレートの各ウェルから残っている80% EtOH を取り除く。
- ▶ MIDIプレートを磁気スタンド上に置いたまま室温で10分間風乾し、エタノールをとばす
- ▶ 22.5 ulのResuspension Buffer (RSB)で懸濁
- ▶ MIDIプレートをMicroseal 'B'でシールし、プレートシェーカーで1分間攪拌
- ▶ MIDIプレートを室温で2分間インキュベートのち、280xgで1分間遠心する。
- ▶ 磁気スタンドで、2分間静置し、上清を20 ul回収し、新しい96ウェルPCRプレートに回収する

## <Best Practice>

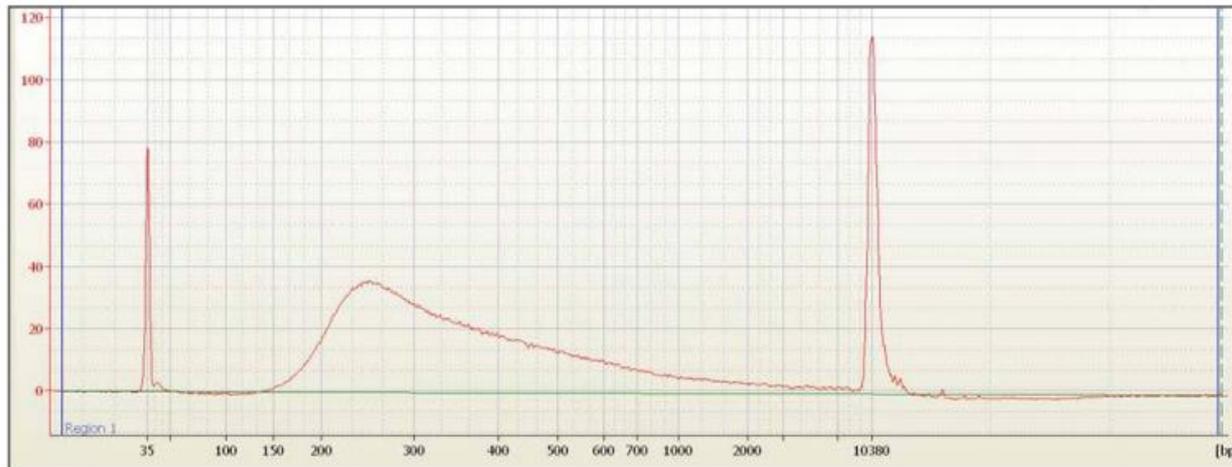
- Sample Purification Beadsは使用前に冷蔵庫から出し、室温に戻しておく
- 80%エタノールは要時調製のものをを用いる

# ステップ1 Nexteraライブラリーステップ

タグメンテーション

精製

- ▶ プレートに残っているタグメンテーション反応溶液1  $\mu\text{l}$  を、Agilent High sensitivity DNA Chipを使用するAgilent Technologies 2100 Bioanalyzer にロードします。
- ▶ 広範な分布が約150 bp ~ 1 kb のサイズ範囲のDNA 断片があるか、サンプルのサイズをチェックします。

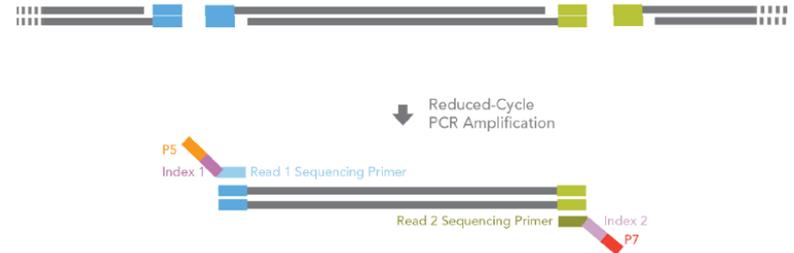


# ステップ1 Nexteraライブラリーステップ

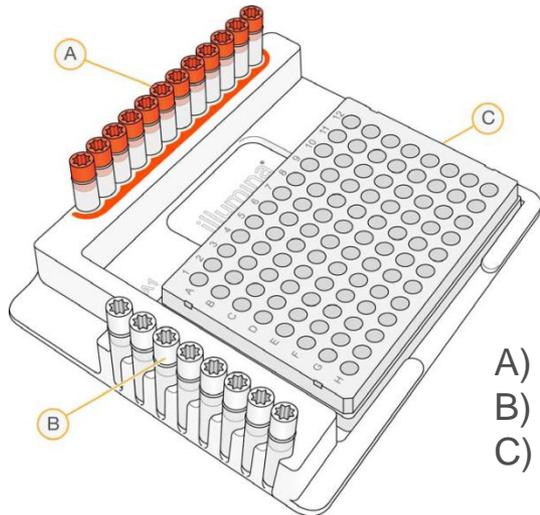
タグメンテーション

精製

1<sup>st</sup> PCR



- ▶ 使用するサンプルの数に合わせて、使用するインデックスの組み合わせを決めておく
- ▶ 使用するIndex1、Index2それぞれのインデックスプライマーをTruSeq Index Plate Fixtureに配置する



- A) Index 1 Primer tubes (orange caps)
- B) Index 2 Primer tubes (white caps)
- C) NLA plate

# ステップ1 Nexteraライブラリーステップ

タグメンテーション

精製

1<sup>st</sup> PCR

- ▶ 20 ulのサンプルDNAにPCRの試薬を加えていく（全量50 ul）

| 試薬                                | 容量    |
|-----------------------------------|-------|
| Tagmented DNA                     | 20 ul |
| Index1 Primer                     | 5 ul  |
| Index2 Primer                     | 5 ul  |
| Nextera Library Amplification Mix | 20 ul |

- ▶ 耐熱シールでプレートをしールし、プレートシェーカーで1分間攪拌
- ▶ プレートを280xgで1分間遠心の後、PCR装置にプレートをセットし、下記のプログラムを実行する

- a) ヒートリッドオプションを100°Cに設定
- b) 72°C for 3 分間
- c) 98°C for 30 秒間
- d) 10 cycles of:
  - 98°C for 10 秒間
  - 60°C for 30 秒間
  - 72°C for 30 秒間
- e) 72°C for 5 分間
- f) Hold at 10°C

## <Best Practice>

- インデックスプライマーのキャップは、コンタミを防ぐため、使い捨てになっている。使用後は新しいキャップでふたをする。

**Safe stopping point**（2~8°Cで2日間まで保存可）

# ステップ1 Nexteraライブラリーステップ

タグメンテーション

精製

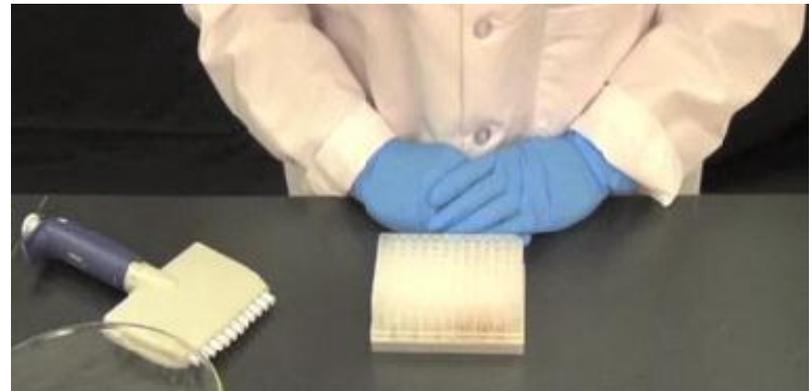
1<sup>st</sup> PCR

精製

- ▶ PCRプレートとPCR装置より取り出し、280 xgで1分間遠心
- ▶ 50 ulのサンプル溶液をプレートより取り出し、新しい96 well MIDIプレートに移す
- ▶ よく懸濁したSample Purification Beads (SPB)を90 ulを用いて、DNAの精製を実施する（実施手順は、タグメンテーション後の精製ステップと参考にする）
- ▶ 27 ulのResuspension Buffer (RSB)で溶出し、上清を25 ul回収し、新しい96ウェルPCRプレートに回収する

## <Best Practice>

- 上清25 ulのサンプル溶液を新しいプレートに移す際には、20  $\mu$ lのシングルチャンネルピペットまたはマルチチャンネルピペットを使用し、12.5  $\mu$ lにセットして、12.5  $\mu$ lを2回続けて移す



# ステップ1 Nexteraライブラリーステップ

タグメンテーション

精製

1<sup>st</sup> PCR

精製

- ▶ 回収したサンプルのDNA濃度を、二本鎖特異的な検出が可能な蛍光定量法で測定する
- ▶ **Safe stopping point** (-15~-25°Cで14日間まで保存可)



Qubit® 2.0 Fluorometer

Copyright © 2015 Thermo Fisher Scientific Inc. Used under permission.

## <Best Practice>

- サンプルの正確な濃度定量が、次の濃縮ステップの成功のキーポイント。

# ステップ1 Nexteraライブラリーステップ

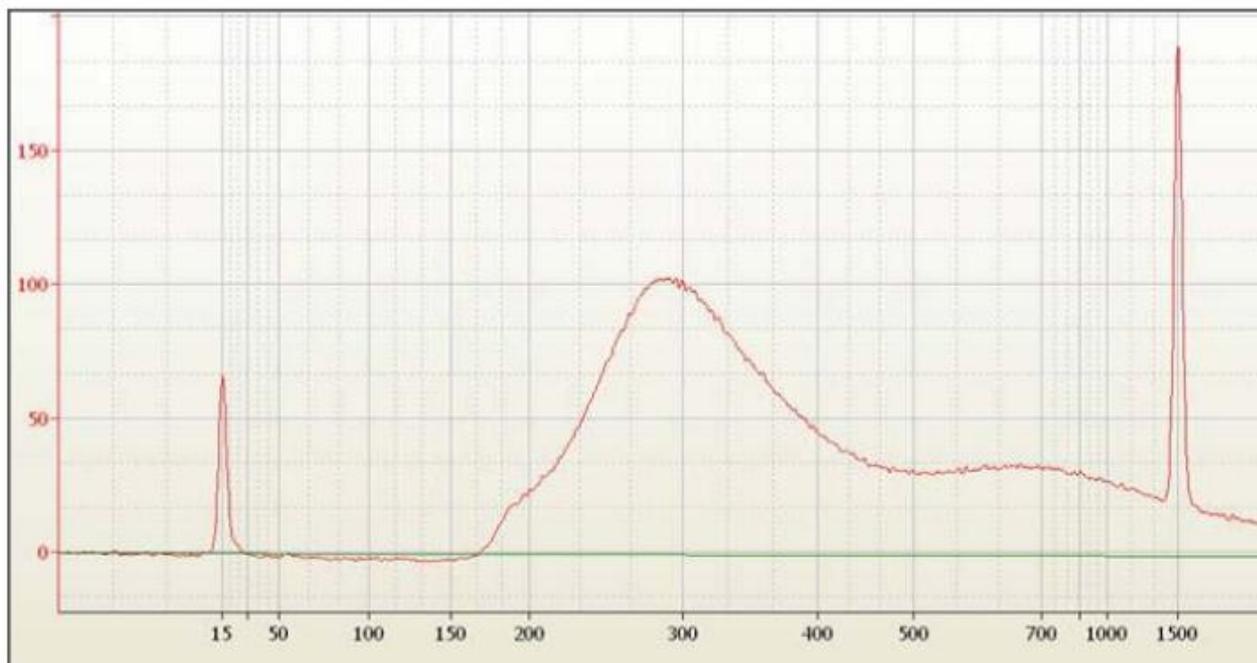
タグメンテーション

精製

1<sup>st</sup> PCR

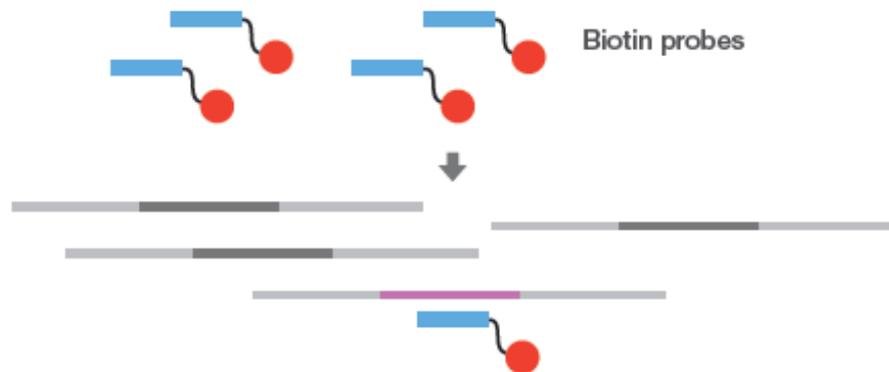
精製

- ▶ Agilent DNA 1000 Chip を使用するAgilent Technologies 2100 Bioanalyzerに、1  $\mu$ l のライブラリをロードします。約150 bp–1 kb のサイズ範囲のDNA 断片があるか確認



# ステップ2 ターゲットDNAの濃縮

## 1st ハイブリダイゼーション



- ▶ 各サンプル500 ngずつを、PCRプレートにプーリングしていく。

| Library Pool Complexity | Total DNA Library Mass (ng) | Library Pool Complexity | Total DNA Library Mass (ng) |
|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| 1-plex                  | 500                         | 7-plex                  | 3500                        |
| 2-plex                  | 1000                        | 8-plex                  | 4000                        |
| 3-plex                  | 1500                        | 9-plex                  | 4500                        |
| 4-plex                  | 2000                        | 10-plex                 | 5000                        |
| 5-plex                  | 2500                        | 11-plex                 | 5500                        |
| 6-plex                  | 3000                        | 12-plex                 | 6000                        |

## ステップ2 ターゲットDNAの濃縮

### 1st ハイブリダイゼーション

- ▶ Resuspension Buffer (RSB)を全量が40 ulになるように加える  
(全量が40 ulを超えた場合は、遠心式濃縮機や限外濾過法を用いて濃縮する)

| 試薬                                            | 容量     |
|-----------------------------------------------|--------|
| DNA library sample or library pool from plate | 40 ul  |
| PrimerEnrichment Hybridization Buffer         | 50 ul  |
| Coding Exome Oligos                           | 10 ul  |
| Total Volume per Sample                       | 100 ul |

- ▶ PCRプレートにMicroseal 'B'でシールし、プレートシェーカーで1分間攪拌
- ▶ PCRプレートをPCR装置にセットし、下記のプログラムを実行
  - a) ヒートリッドオプションを100°Cに設定
  - b) 95°C 10 分間
  - c) 94°C から始まり、サイクルごとに2°C下がる1 分間のインキュベーションを18 サイクル
  - d) 58°Cで90分以上、最長で24時間インキュベート

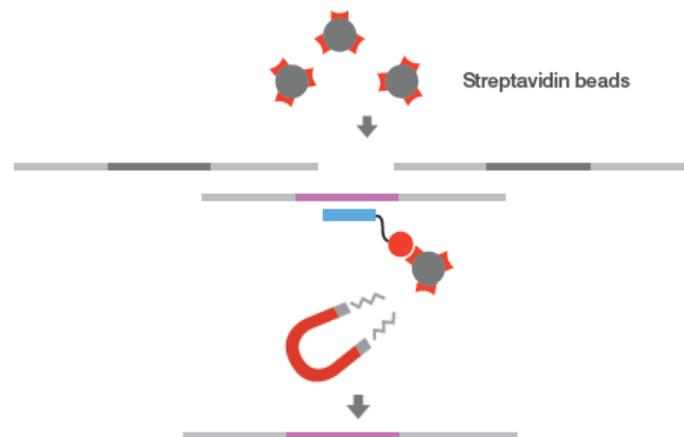
#### <Best Practice>

- 次のステップ(First Capture)に進む準備ができるまでは、プレートは58°Cに置いたままにする。  
室温には放置しないこと。

## ステップ2 ターゲットDNAの濃縮

1st ハイブリダイゼーション

1st キャプチャー



- ▶ PCR プレートがPCR装置より回収ののち、 $280 \times g$ で1分間遠心する
- ▶ サンプル溶液全量をMIDIプレートに移す
- ▶ よく懸濁したStreptavidin Magnetic Beadsを各ウェルに250 ulずつ加える
- ▶ MIDIプレートをMicroseal 'B'でシールし、プレートシェーカーで5分間攪拌
- ▶ MIDIプレートを25分間室温で静置する
- ▶  $280 \times g$ で1分間遠心する
- ▶ シールを剥がした後、MIDIプレートを磁気スタンドに置き、2分間、室温で静置する
- ▶ Beadsを吸い込まないように注意しながら、ピペットで上清を取り除く
- ▶ 磁気スタンドからプレートを外す

## ステップ2 ターゲットDNAの濃縮

1st ハイブリダイゼーション

1st キャプチャー

- ▶ あらかじめ溶解、混和したEnrichment Wash Solutionを200 ulずつ各ウェルに加える
- ▶ Microseal 'B' でシールする。
- ▶ マイクロプレートシェーカーで、4分間攪拌
- ▶ 各ウェルの全量を上下にそっとピペティングして、サンプルを完全に再懸濁する
- ▶ MIDIプレート Microseal 'B' でシールする
- ▶ あらかじめ50°CにしておいたMicroheating Systemで、50°C、30分間インキュベート する
- ▶ ただちにMIDIプレートを磁気スタンドに移し、2分間静置
- ▶ ただちに上清を取り除く
- ▶ Enrichment Wash Solutionを200 ulずつ加え、上記のwashの操作 を繰り返す



## ステップ2 ターゲットDNAの濃縮

1st ハイブリダイゼーション

1st キャプチャー

- ▶ 1.7 mlマイクロチューブに溶出用の試薬のプレミックスを下記のように用意し、23 ulずつをMIDIプレートの各ウェルに分注する

| 試薬                          | 容量      |
|-----------------------------|---------|
| Enrichment Elution Buffer 1 | 28.5 ul |
| 2N NaOH                     | 1.5 ul  |
| Total Volume per Sample     | 30 ul   |

- ▶ MIDIプレートをMicroseal 'B'でシールし、プレートシェーカーで2分間攪拌
- ▶ MIDIプレートを室温で2分間静置の後、280xgで1分間遠心する
- ▶ MIDIプレートを磁気スタンドで2分間静置の後、21 ulの上清を回収し、新しいPCRプレートに移す
- ▶ 4 ulのElute Target Bufferを各ウェルに加えて、中和する
- ▶ PCRプレートをMicroseal 'B'でシールし、プレートシェーカーで1分間攪拌
- ▶ PCRプレートを室温で2分間静置の後、280xgで1分間遠心する

**Safe stopping point** (-15°C~-25°Cで7日間まで保存可)

## ステップ2 ターゲットDNAの濃縮

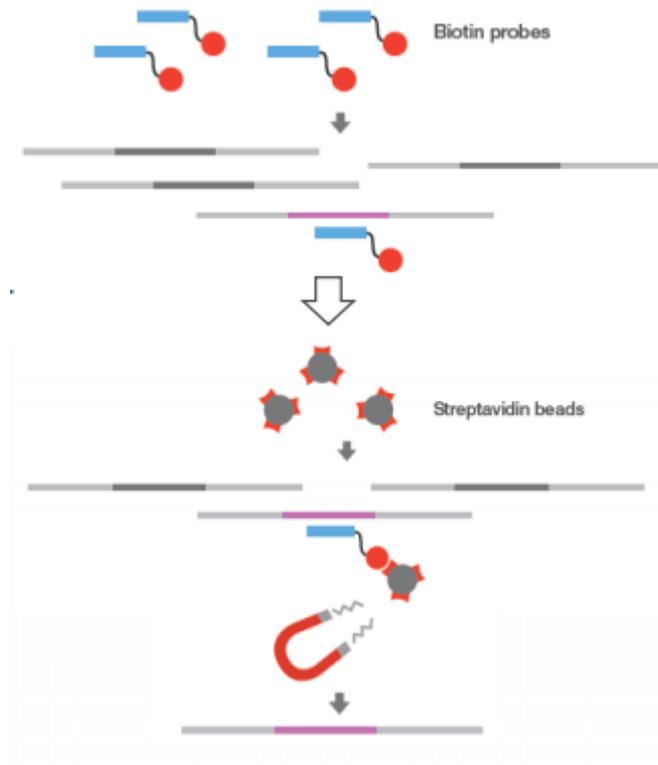
1st ハイブリダイゼーション

1st キャプチャー

2nd ハイブリ&キャプチャー

- ▶ 1st ハイブリダイゼーションと1st キャプチャーのステップを繰り返して実施。ただし、ハイブリダイゼーションステップのインキュベーション時間が異なる

- ヒートリッドオプションを100° Cに設定
- 95° C for 10 分間
- 94° C から始まり、サイクルごとに2° C下がる  
1 分間のインキュベーションを18 サイクル
- 58° Cで14.5時間以上、最長で24時間インキュベート



## ステップ2 ターゲットDNAの濃縮

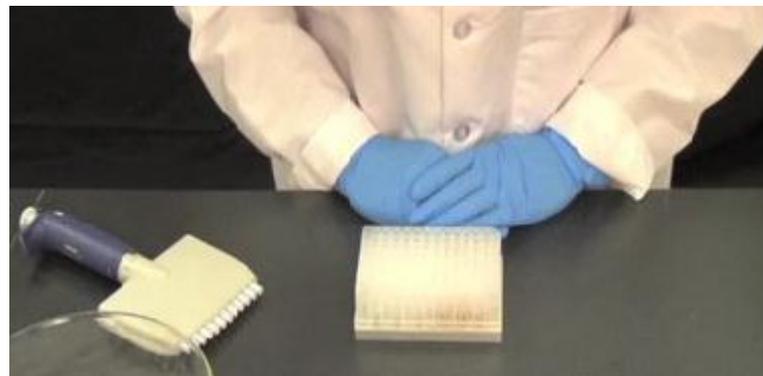
1<sup>st</sup> ハイブリダイゼーション

1<sup>st</sup> キャプチャー

2<sup>nd</sup> ハイブリ&キャプチャー

精製

- ▶ よく懸濁したSample Purification Beads (SPB)を45 ulを用いて、DNAの精製を実施する(実施手順は、1<sup>st</sup> PCR の精製ステップと同様)
- ▶ 27.5 ulのResuspension Buffer (RSB)で溶出し、上清を25 ul回収し、新しい96ウェル PCRプレートに回収する
- ▶ **Safe stopping point** (-15~-25°Cで7日間まで保存可)



## ステップ2 ターゲットDNAの濃縮

2nd ハイブリ&キャプチャー

精製

2nd PCR

- ▶ PCR用試薬サンプルDNAの入ったPCRプレートの各ウェルに加える(全量50 ul)

| 試薬                                   | 容量    |
|--------------------------------------|-------|
| Captured DNA                         | 25 ul |
| PCR Primer Cocktail                  | 5 ul  |
| Nextera Enrichment Amplification Mix | 20 ul |

- ▶ PCRプレートをMicroseal 'B'でシールし、プレートシェーカーで1分間攪拌
- ▶ 280 × gで1分間遠心する。
- ▶ PCR装置にPCRプレートを設置し、プログラムを実行
  - a) ヒートリッドオプションを100° Cに設定
  - b) 72 °C for 3 分間
  - c) 98 °C for 30 秒間
  - d) 10 or 12 cycles of:
    - 98 °C for 10 秒間
    - 60 °C for 30 秒間
    - 72 °C for 30 秒間
  - e) 72 °C for 5 分間
  - f) Hold at 10°C



### <Best Practice>

- 大きなキャプチャターゲットサイズ(たとえば > 2 Mb)の場合、10 サイクルのPCR を推奨
- 小さなキャプチャターゲットサイズ(たとえば < 2 Mb)の場合、クラスター形成およびシーケンスのために適切な収量を得られるようにするため、12 サイクルのPCR を推奨
- Nextera Enrichment Amplification MixとPCR Primer Cocktailは凍結融解を繰り返さないために、小分けにして冷凍保存することを推奨

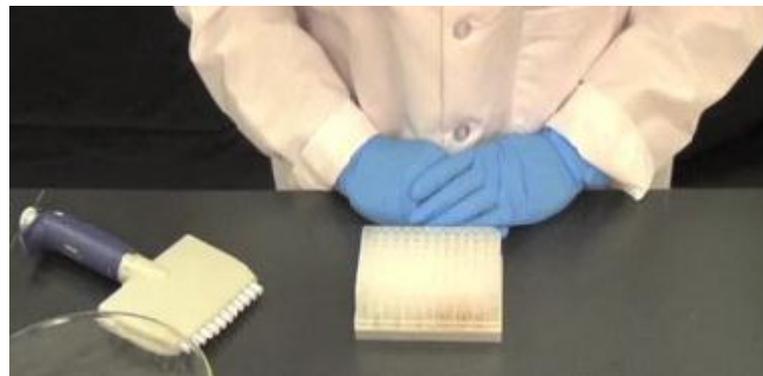
## ステップ2 ターゲットDNAの濃縮

2nd ハイブリ&キャプチャー

精製

2nd PCR

- ▶ サンプル全量 (50 ul) をMIDIプレートに移す
- ▶ よく懸濁したSample Purification Beads (SPB)を90 ulを用いて、DNAの精製を実施する(実施手順は、PCRの精製と同様)
- ▶ 32 ulのResuspension Buffer (RSB)で溶出し、上清を30 ul回収し、新しい96ウェルPCRプレートに回収する
- ▶ **Safe stopping point** (-15~-25°Cで7日間まで保存可)



## ステップ2 ターゲットDNAの濃縮

2<sup>nd</sup> ハイブリ&キャプチャー

精製

2<sup>nd</sup> PCR

- ▶ 回収したサンプルのDNA濃度を、二本鎖特異的な検出が可能な蛍光定量法で測定する
- ▶ 400 bpと仮定、または濃縮ライブラリーの平均サイズに基づいて濃度を計算する

$$\text{例) } \frac{15 \text{ ng/ul}}{(660 \text{ g/mol} \times 400 \text{ bp})} \times 10^6 = 57 \text{ nM}$$

Qubit® 2.0 Fluorometer



Copyright © 2015 Thermo Fisher Scientific Inc. Used under permission.

- ▶ qPCRでの測定も可能  
Sequencing Library qPCR Quantification Guide  
<http://support.illumina.com/sequencing/kits.html>



KAPA NGSライブラリ調製キット  
(Nihon Genetics)

[http://www.n-genetics.com/product\\_detail.html?item\\_id=4484](http://www.n-genetics.com/product_detail.html?item_id=4484)

## ステップ2 ターゲットDNAの濃縮

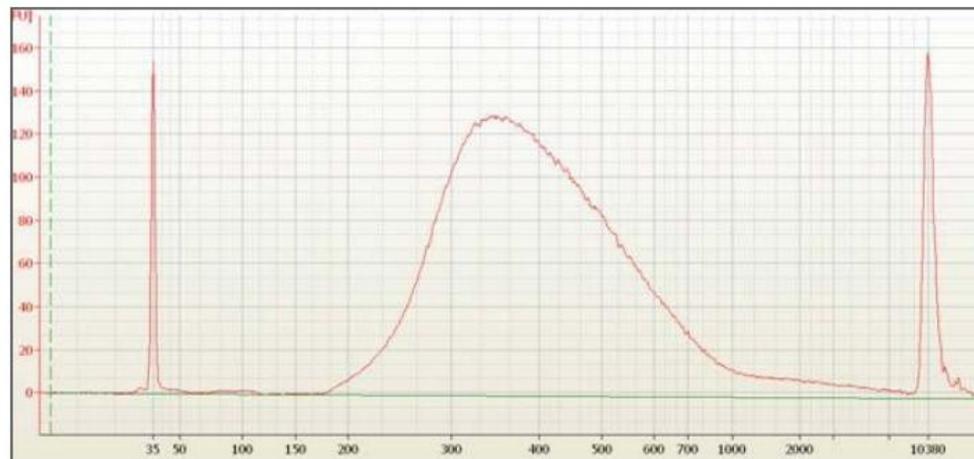
2<sup>nd</sup> ハイブリ&キャプチャー

精製

2<sup>nd</sup> PCR

- ▶ Agilent High Sensitivity DNA 1000 Chip を使用するAgilent Technologies 2100 Bioanalyzer に、1  $\mu$ l のライブラリをロードします。インデックスのレベルによっては、サンプルを最初に希釈することが必要になる可能性があります。

Figure 5 Example Nextera Rapid Capture Enrichment Post-Enrichment (12-plex Enrichment) Library Distribution



- ▶ 分布が約200 bp ~ 1 kb のサイズ範囲があるか、DNA 断片ライブラリーのサイズをチェックします

# ステップ3 NextSeqランのセットアップ

Denature DNA

Sample Loading

- ▶ 0.2N NaOHを混和
- ▶ 200 mM Tris-HCl, pH 7
- ▶ 氷冷した HT1 を混合

<Denaturing and Diluting Libraries for the NextSeq 500>

<http://support.illumina.com/downloads/nextseq-500-denaturing-diluting-libraries-15048776.htm>

<イルミナサポートウェビナー>

[http://www.illumina.co.jp/events/webinar\\_japan/support\\_webinar.ilmnl](http://www.illumina.co.jp/events/webinar_japan/support_webinar.ilmnl)

- ▶ NextSeq試薬カートリッジを冷凍庫から取り出して、溶解（水浴での溶解も可）
- ▶ 希釈・変性済みのDNAライブラリーをロード、ラン開始

<NextSeq 500 Kit v1/v2 Reference Guide>

<http://support.illumina.com/downloads/nextseq-500-kit-v2-reference-guide-15058065.html>

<http://support.illumina.com/downloads/nextseq-500-kit-reference-guide-15048775.html>

<NextSeq 500 System Guide>

<http://support.illumina.com/downloads/nextseq-500-user-guide-15046563.html>



2015/04/10  
NGSをはじめよう！  
NextSeqで何ができるのか？

ご清聴ありがとうございました

本日セッション終了後のご質問は、  
[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)にお問い合わせください