

# illumina iSeq™ 100システムの 概要とワークフロー



# 本日の内容

## 特徴

シーケンスの一般的な工程と基本原理

iSeq 100のシーケンスワークフロー

Local Run Manager

トラブルシューティング

メンテナンス

Illumina Proactive

補足情報



illumina®

# 特徴



# iSeq™ 100の仕様（2019年6月現在）



リード数

**400万** リード

リード長

**2x150** base pairs

ラン時間

**9-17.5** 時間

データ量（総塩基数）

**1.2** giga bases

# iSeq™ 100消耗品の特徴

## カートリッジ



## フローセル

### 消耗品類は使い捨てタイプ

▶ 試薬カートリッジとフローセルをセットで提供 (iSeq 100 i1 Reagent)

### 試薬カートリッジ内にシーケンスに必要な試薬がすべて含まれる

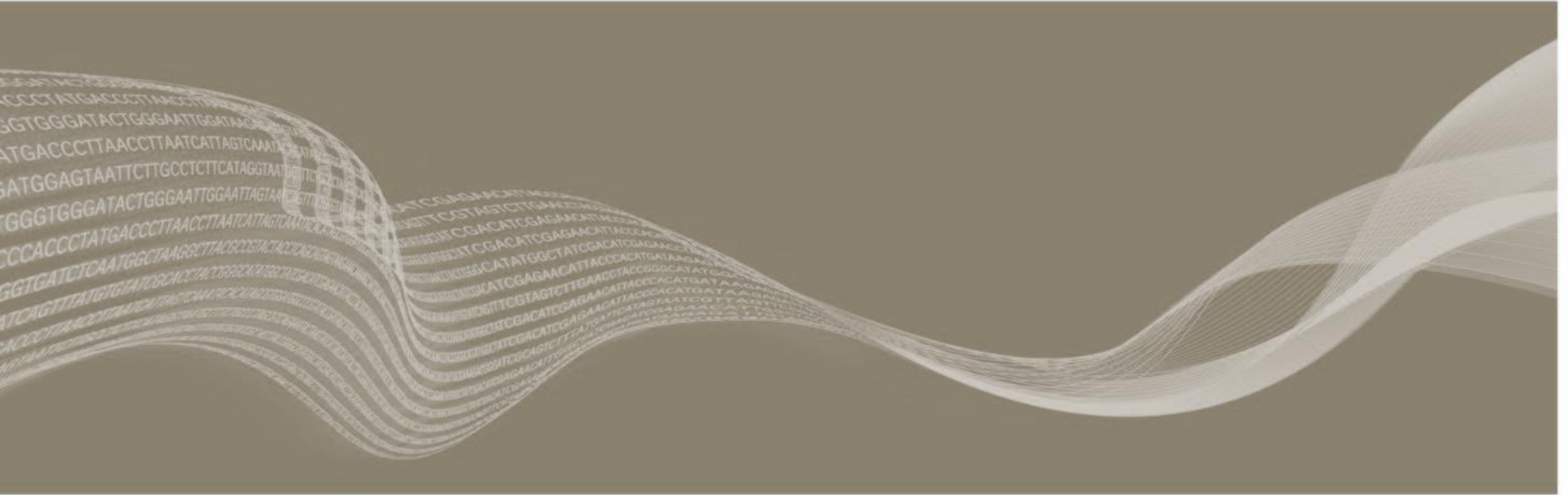
▶ ライブラリをロードするだけでシーケンスが可能

### 流路がカートリッジ内で完結している

▶ iSeq 100本体には流路系がないためラン後のウォッシュは不要

▶ 以前解析したシーケンスサンプルが残存する心配がない

# シーケンスの一般的な工程と基本原理



# シーケンスの工程

1

ライブラリ調製：DNAをシーケンス可能な構造にする

装置内で自動的に行われる

2

クラスター形成：ライブラリが増幅される

3

シーケンシング：塩基配列情報（蛍光画像）が取得される

4

解析：蛍光画像をもとに塩基配列を決定＋任意の解析が実行される

# シーケンスの工程

1

ライブラリ調製：DNAをシーケンス可能な構造にする

装置内で自動的に行われる

2

クラスター形成：ライブラリが増幅される

3

シーケンシング：塩基配列情報（蛍光画像）が取得される

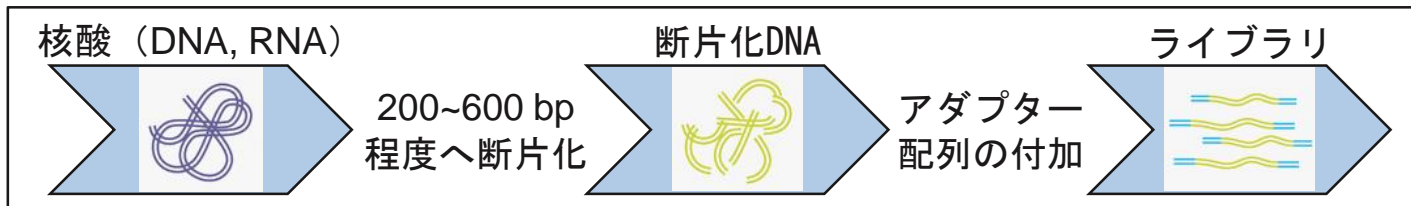
4

解析：蛍光画像をもとに塩基配列を決定＋任意の解析が実行される



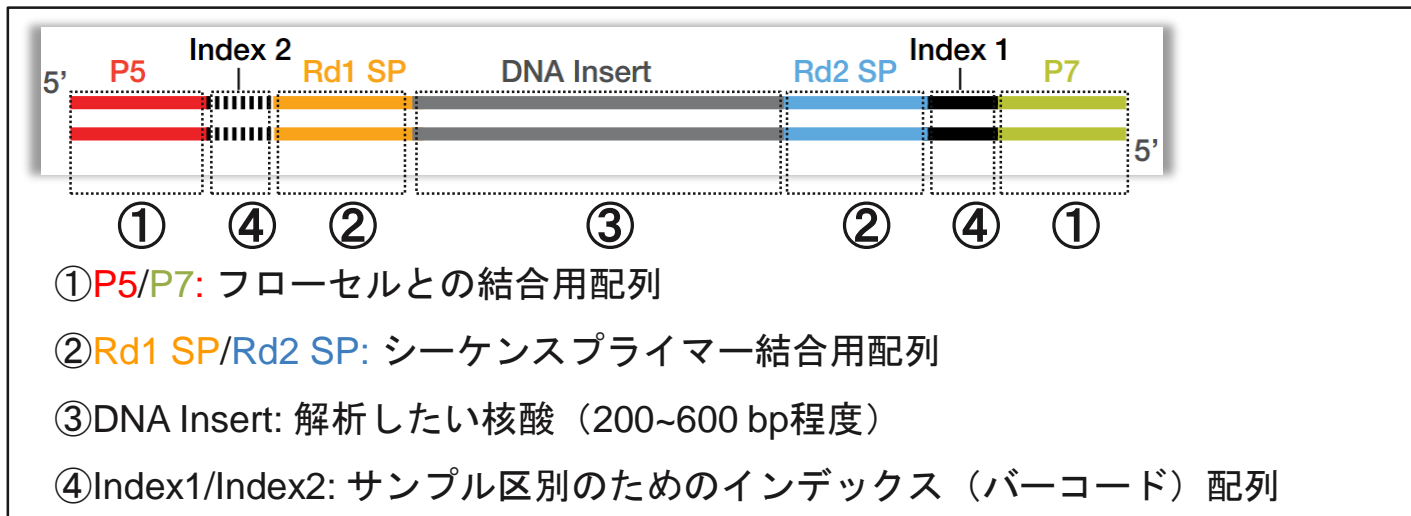
# ライブラリ調製：DNAをシーケンス可能な構造にする

## ライブラリ調製の一般的な流れ



※RNAを材料とする場合は断片化前に逆転写が必要

## ライブラリの構造



# イルミナ製ライブラリ調製キットの検索ツール

illumina®

SIGN IN VIEW CART 予算申請書依頼リクエスト 論文要旨集リクエスト お問い合わせ ロケーション選択

研究分野 研究方法 システム 製品・サービス インフォマティクス サイエンスと教育 カンパニー サポート

SEARCH

## ライブラリー調製&アレイキットセレクター

目的に合ったライブラリー調製キットまたマイクロアレイキットがお探しいただけます

検索したい項目をお選びください:

- 分野
- アプリケーション
- 手法
- 生物種
- 装置

革新的なテクノロジー

イルミナは、遺伝多型と機能解析のための最新テクノロジーと革新的なアッセイを応用し、数年前は不可能であった研究を可能にすることを目標としています。私たちはお客様のニーズを満たすために、革新的で高い柔軟性と拡張性をもつソリューションをご提供することが必須であると考えています。グローバルカンパニーとして共同研究に価値をおき、迅速なソリューション、最高の品質を提供することに努めています。イルミナの革新的なシーケンスとアレイテクノロジーは、ライフサイエンス、トランスレーショナル研究、消費者ゲノミクス、分子診断の分野において画期的な進歩を支えています。

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での利用はできません。

© 2019 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](http://jp.illumina.com/company/legal.html) をご覧ください。

Twitter Facebook LinkedIn Instagram YouTube

<https://jp.illumina.com/library-prep-array-kit-selector.html>

illumina®

# シーケンスの工程

1

ライブラリ調製：DNAをシーケンス可能な構造にする

装置内で自動的に行われる

2

クラスター形成：ライブラリが増幅される

3

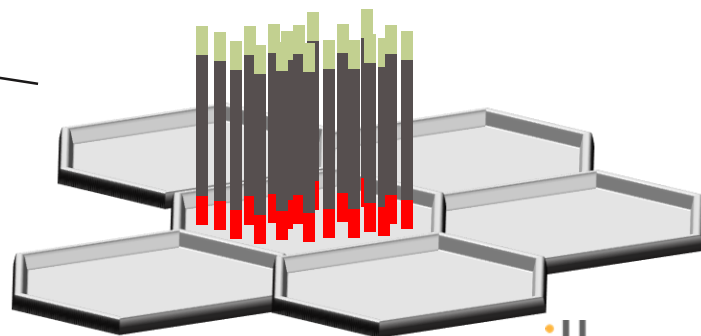
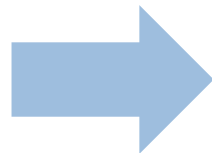
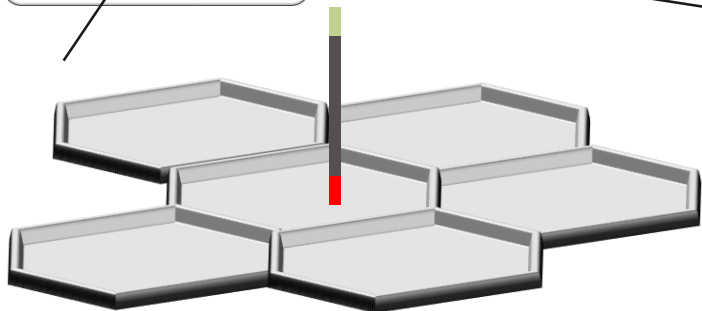
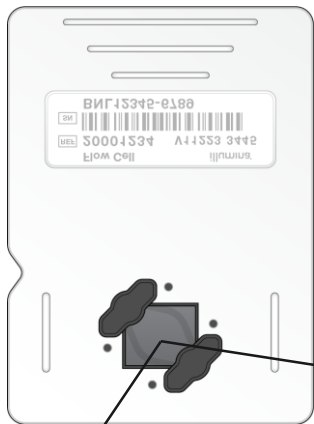
シーケンシング：塩基配列情報（蛍光画像）が取得される

4

解析：蛍光画像をもとに塩基配列を決定＋任意の解析が実行される

## クラスター形成：ライブラリが増幅される

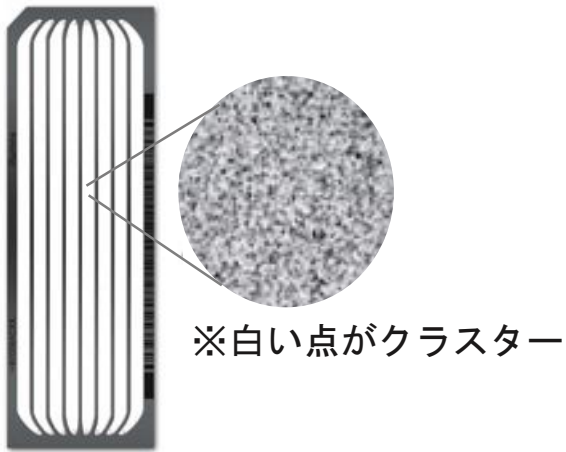
- クラスターとは1分子由来のライブラリから増幅されたDNA鎖の集団
- 本工程の目的は1分子由来のライブラリを装置が検出可能な分子量まで増やすこと
- 1フローセルあたり400万クラスターほど形成（400万ヶ所でクラスターが作られる）
- 本ウェビナーでは形成されたクラスターの数＝リード数と定義



# iSeq™ 100ではパターン化フローセルを採用

## 従来のフローセル(ランダムフローセル)

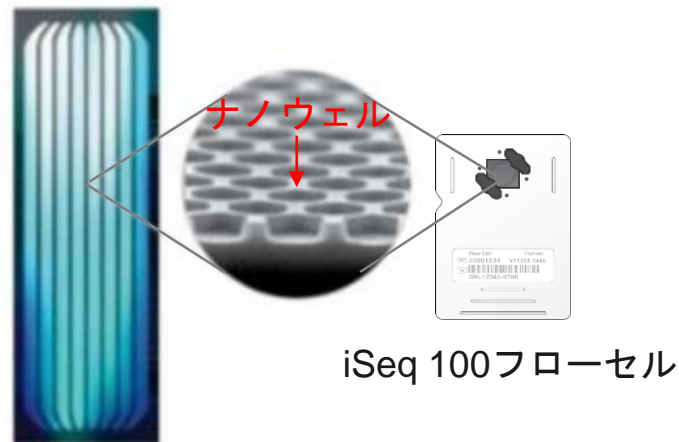
- HiSeq 2500, MiSeq, NextSeq, MiniSeqで採用
- クラスタがランダムな位置で増幅



HiSeq 2500フローセル

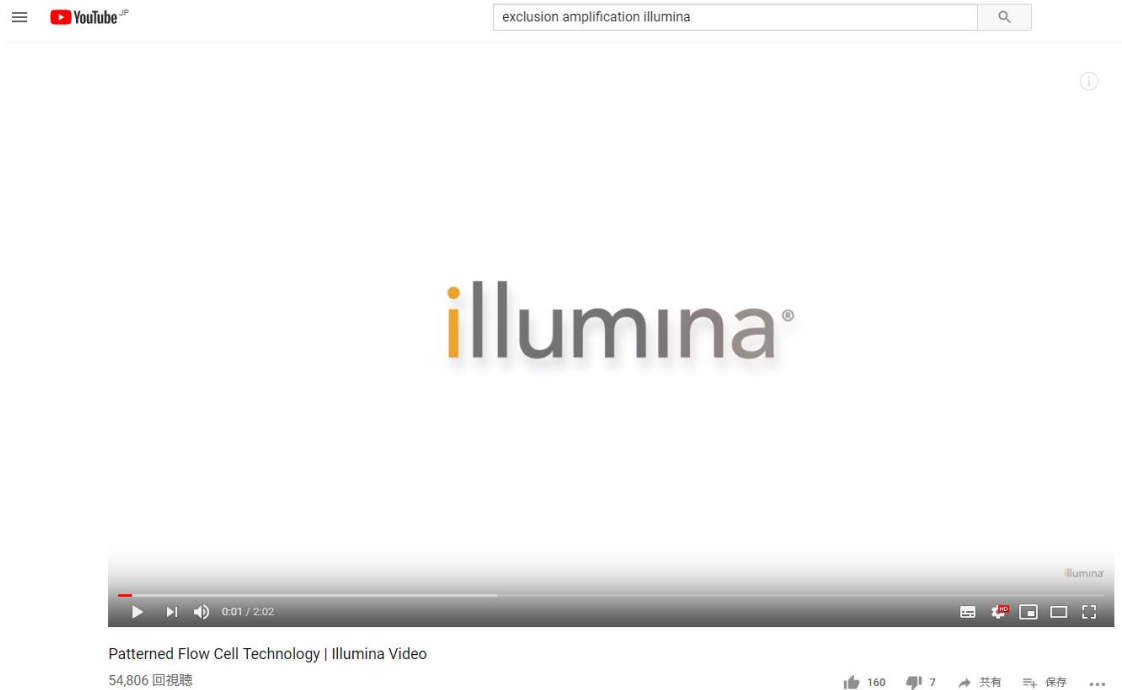
## 新しいフローセル(パターン化フローセル)

- HiSeq 3K/4K/X, NovaSeq, iSeq 100で採用
- クラスタが決まった位置(ナノウェル内)で増幅
- クラスタがランダムフローセルよりも高密度化



HiSeq 3K/4K/Xフローセル

# パターンフローセルにおけるクラスター形成の原理 -解説動画公開中



<https://www.youtube.com/watch?v=pfZp5Vgsbw0>

illumina®

# シーケンスの工程

1

ライブラリ調製：DNAをシーケンス可能な構造にする

装置内で自動的に行われる

2

クラスター形成：ライブラリが増幅される

3

シーケンシング：塩基配列情報（蛍光画像）が取得される

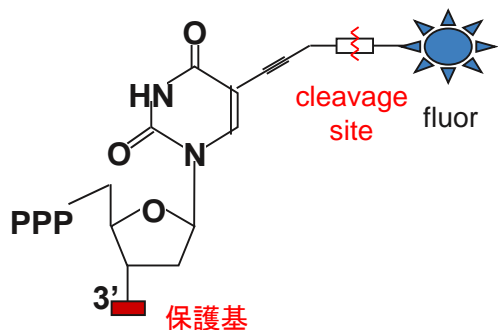
4

解析：蛍光画像をもとに塩基配列を決定＋任意の解析が実行される

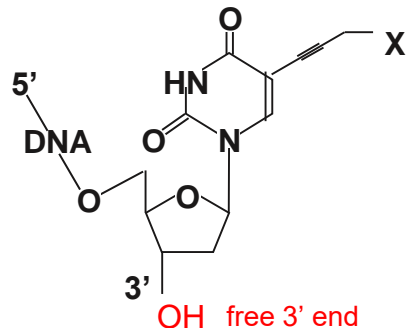
## シーケンシング：塩基配列情報（蛍光画像）が取得される

### Sequencing By Synthesis (SBS)法

- ・ 可逆的ターミネーターを用いて一塩基ずつシーケンスする
- ・ 1反応毎に蛍光ラベルされた4ヌクレオチドを加える（蛍光の種類で塩基を特定）
- ・ 3'末端に保護基があるためDNA合成と蛍光検出をstep by stepで進められる
- ・ 高精度で信頼があり、ホモポリマー領域も正確に解析できる



- ⇒
- ①ヌクレオチド取り込み
  - ②検出
  - ③Block除去
  - ④Fluor除去



⇒ 次サイクルの  
SBS反応



# SBS法の詳細 - 日本語ウェブセミナー公開中

The screenshot shows the top navigation bar of the Illumina website. The logo 'illumina' is on the left. The navigation menu includes: SIGN IN, VIEW CART, 予算申請書類リクエスト, 論文要旨集リクエスト, お問い合わせ, and ロケーション選択. Below the navigation bar, there are categories: 研究分野, 研究手法, システム, 製品・サービス, インフォマティクス, サイエンスと教育, カンパニー, and サポート. A search bar is on the right. The main content area has a blue background with the text: 学会&イベント, 概要, ウェビナー録画, イルミナiSchool, and イベント開催レポート. The main title of the webinar is: NGSをはじめよう～イルミナシーケンサーの基礎～【イルミナiSchool 初級】.

## 詳細

本ウェビナーでは、イルミナシーケンサーで実験を検討されている方を対象として、イルミナシーケンサーのラインナップ、ご研究内容に沿った装置の選び方、イルミナシーケンサーに共通のSBS (Sequencing By Synthesis) ケミストリーを用いたシーケンスの原理を基礎からご説明いたします。

### Date & Time

2018/11/28  
15:00 - 16:00

### Location

Japan  
Asia

[Download PDF](#)

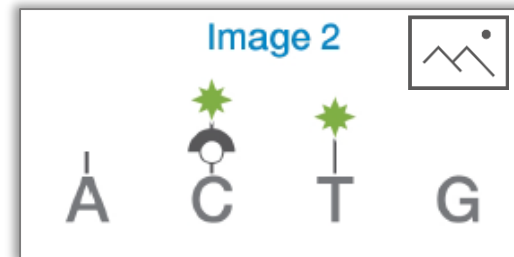
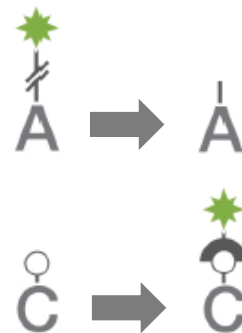
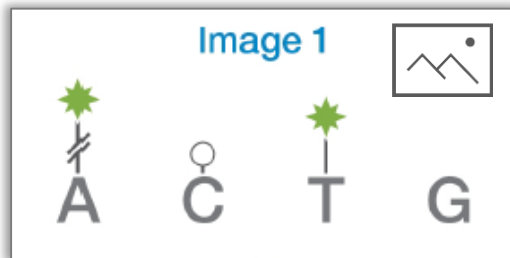
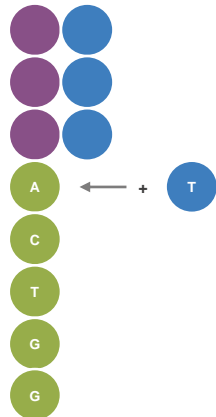
[ウェビナーを見る](#)

<https://jp.illumina.com/events/webinar/2018/webinar-181128-j.html>

illumina®

# iSeq™ 100におけるシーケンシング

1 シーケンスサイクル



塩基取り込み

1画像目の取得

化学反応

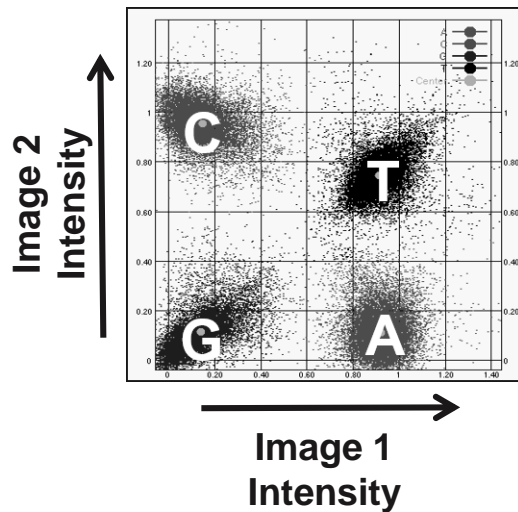
2画像目の取得

X サイクル数 (bp)

保護基と蛍光色素の除去

# iSeq™ 100における塩基決定

Base	Image 1	Image 2
T	ON	ON
A	ON	OFF
C	OFF	ON
G	OFF	OFF

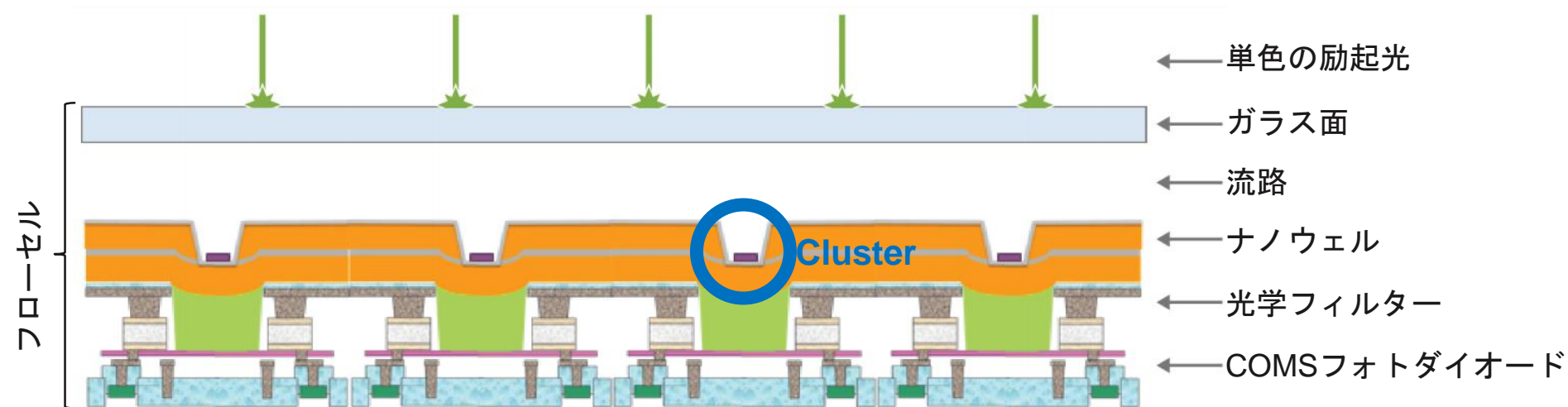


- iSeq 100 システムは 1 色素シーケンシングを使用
- 上記の表に従って4つの塩基を1色素と2画像で決定

# イメージング原理：CMOSセンサーの利用

- クラスタは単色の光源で励起される
- 各クラスタには、CMOS内に関連付けられたセンサーがある→イメージングの簡略化

※(CMOS : Complementary metal-oxide-semiconductor)



# シーケンスの工程

1

ライブラリ調製：DNAをシーケンス可能な構造にする

装置内で自動的に行われる

2

クラスター形成：ライブラリが増幅される

3

シーケンシング：塩基配列情報（蛍光画像）が取得される

4

解析：蛍光画像をもとに塩基配列を決定＋任意の解析が実行される

## 解析：蛍光画像をもとに塩基配列を決定＋任意の解析が実行される

### Local Run Mangerモード

#### Local Run Manger

ラン条件、サンプル情報、解析ワークフロー指定



#### iSeq Control Software

設定情報呼び出し



一次解析（画像取得、画像解析、塩基決定）



#### Local Run Manger/BaseSpace Sequence Hub

二次解析（FASTQの作成と設定に応じた解析）



レポート表示

### Manualモード

ラン条件のみ設定



#### Linux環境

FASTQの作成等

# iSeq™ 100でのアプリケーション例

The screenshot shows the Illumina website interface. At the top, there is a navigation bar with the Illumina logo and links for SIGN IN, VIEW CART, and various support options. Below this is a secondary navigation bar with categories like 研究分野, システム, and サポート. The main content area features a large blue banner with white text: "あらゆるラボにフィットする迅速で効率的な低スループットシーケンスを実現するイルミナの最新ソリューション- iSeq 100シーケンスシステムのご紹介". Below the banner, there is a section titled "詳細" (Details) with a left-pointing arrow. The text in this section describes the iSeq 100 system's benefits for NGS. To the right of the text is a box containing event details: "Date & Time: 2018/02/07 17:00", "Location: Japan, Asia", and a "Download PDF" link. At the bottom of this box is a blue button labeled "ウェビナーを見る" (View Webinar).

illumina®

SIGN IN | VIEW CART | 予算申請書類リクエスト | 論文要旨集リクエスト | お問い合わせ | ロケーション選択

研究分野 | 研究手法 | システム | 製品・サービス | インフォマティクス | サイエンسと教育 | カンパニー | サポート

学会&イベント | 概要 | ウェビナー録画 | イルミナSchool | イベント開催レポート

あらゆるラボにフィットする迅速で効率的な低スループットシーケンスを実現するイルミナの最新ソリューション- iSeq 100シーケンスシステムのご紹介

詳細

iSeq 100システムにより、次世代シーケンサー（NGS）はこれまでになく簡単でお求めやすくなります。このシステムは簡潔さを追求して設計されており、あらゆる規模のラボにおいて、DNAやRNAのシーケンスをボタン操作だけで実行できるようになります。iSeq 100システムは、独立した低スループットのシーケンスのためのコスト効率の高いソリューションです。このウェビナーでは、iSeq 100を使えば、よりハイスループットのシステムや外部委託を利用する場合のように多くのサンプルが集まるまで待つことなく、いかに自分の都合に合わせてランを実行できるかについてご説明します。

Date & Time  
2018/02/07  
17:00

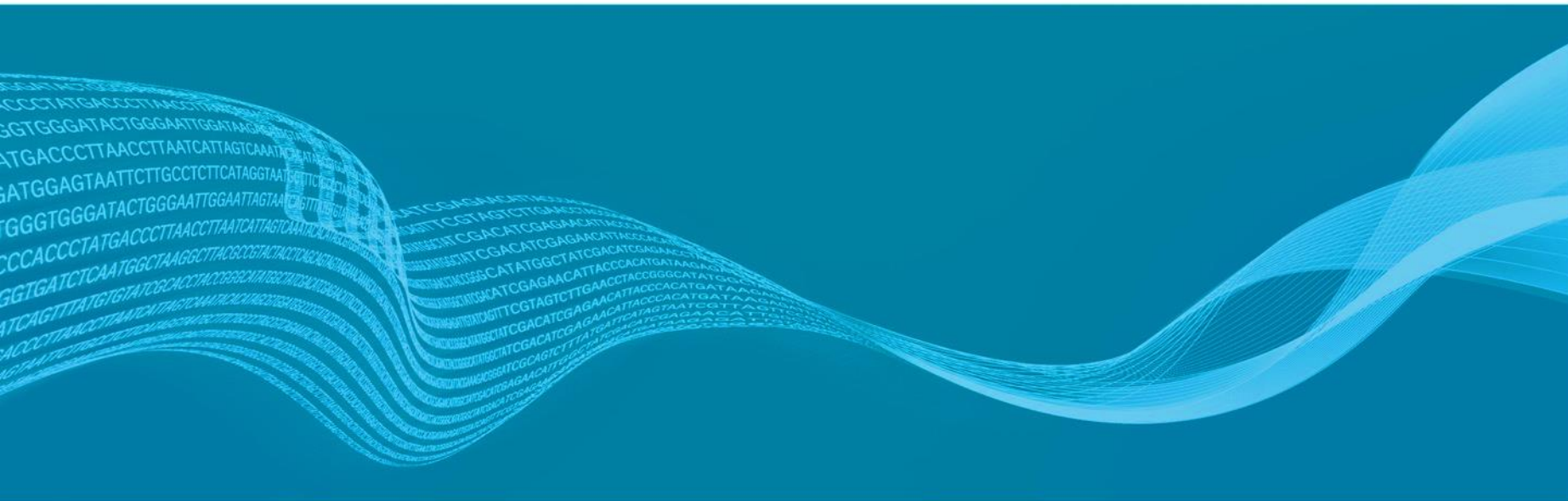
Location  
Japan  
Asia

Download PDF

ウェビナーを見る

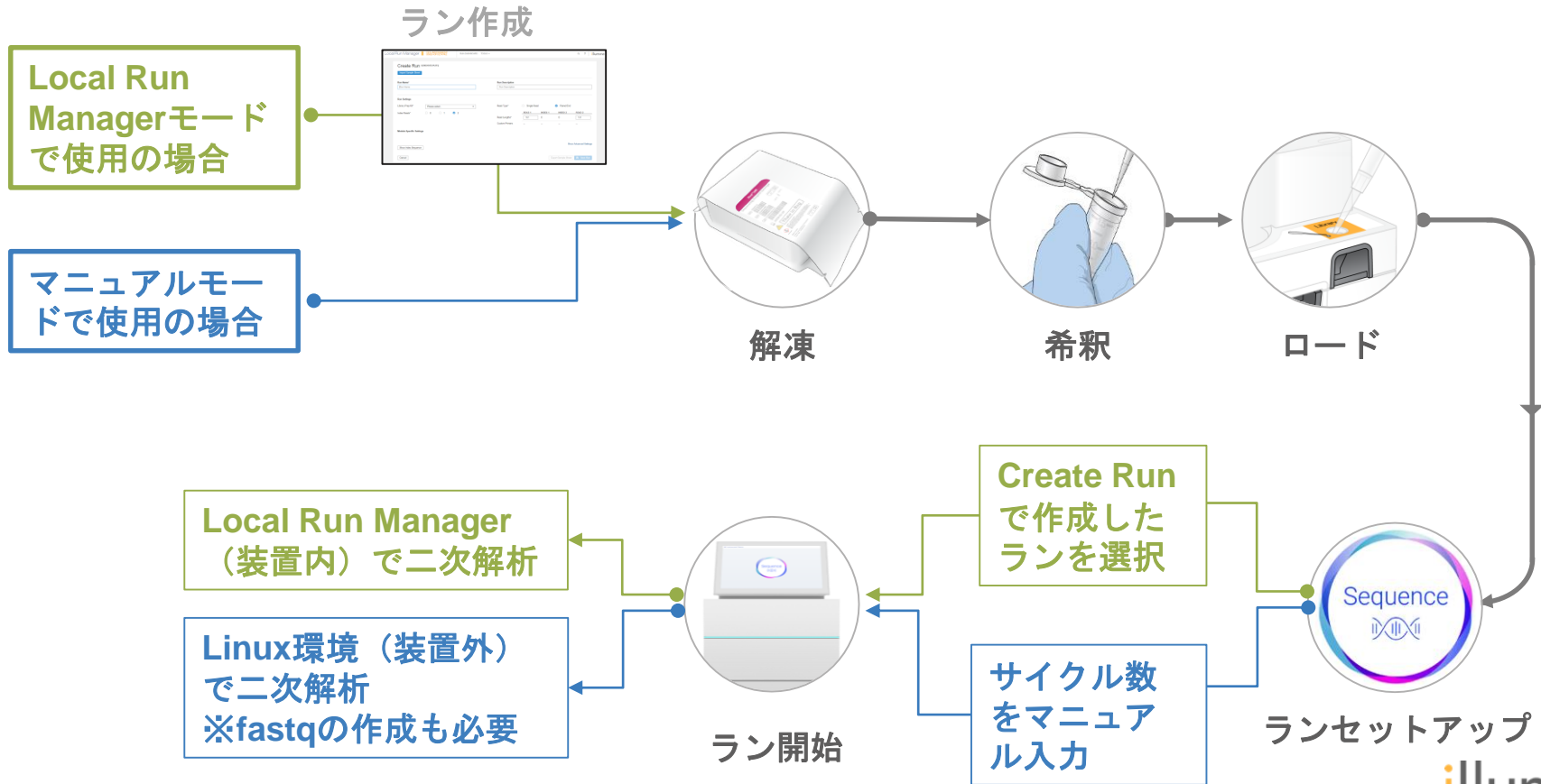
<https://jp.illumina.com/events/webinar/2018/new-product-webinar-iseq-0207.html>

# iSeq 100のシーケンスワークフロー

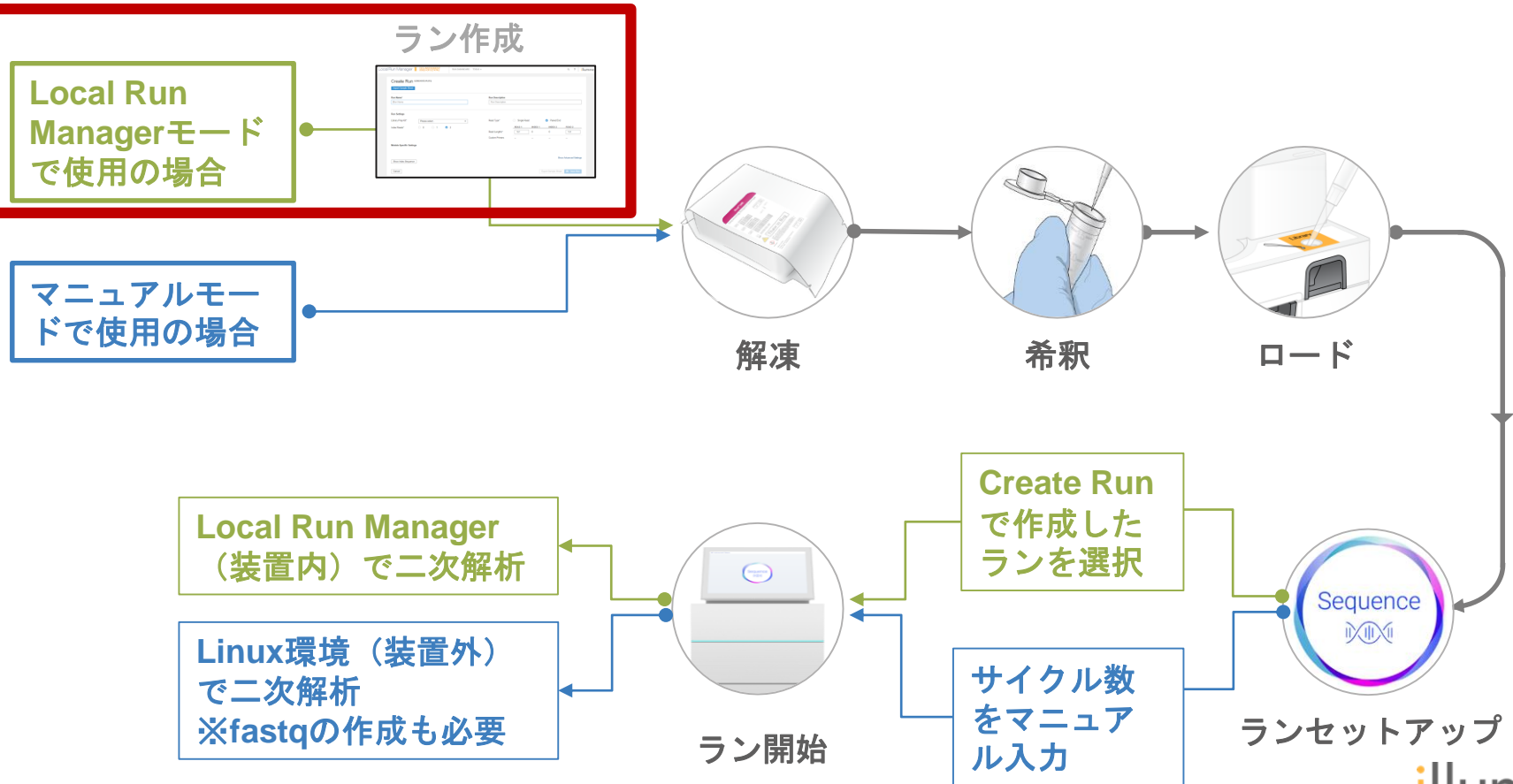




# iSeq 100のシーケンスワークフロー

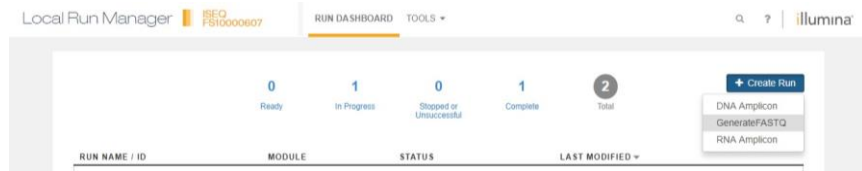


# iSeq 100のシーケンスワークフロー

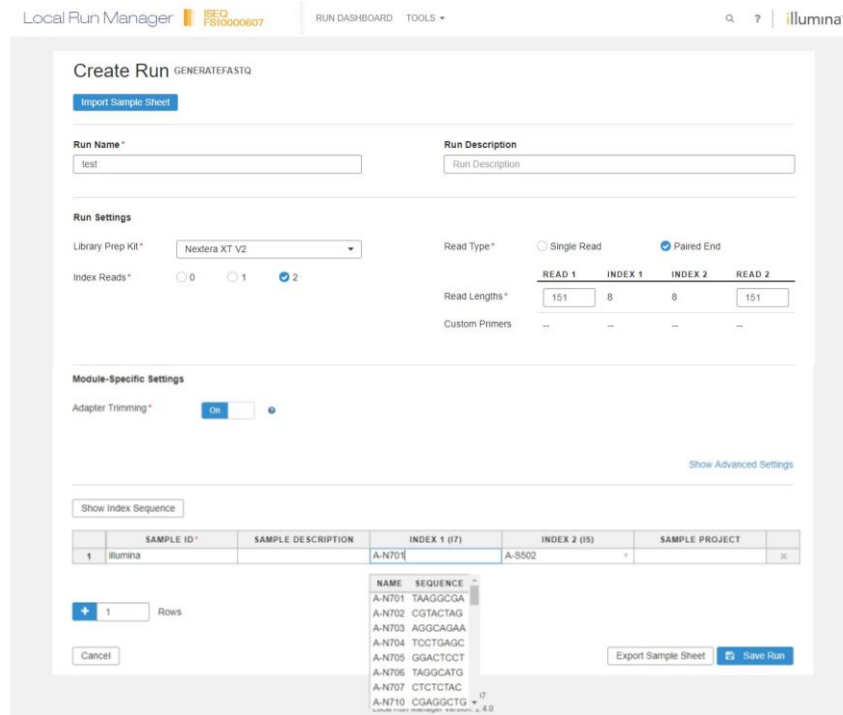


# Local Run Managerでのラン作成

Create Run → 解析モジュールの順にクリック



ラン条件とサンプル情報を入力

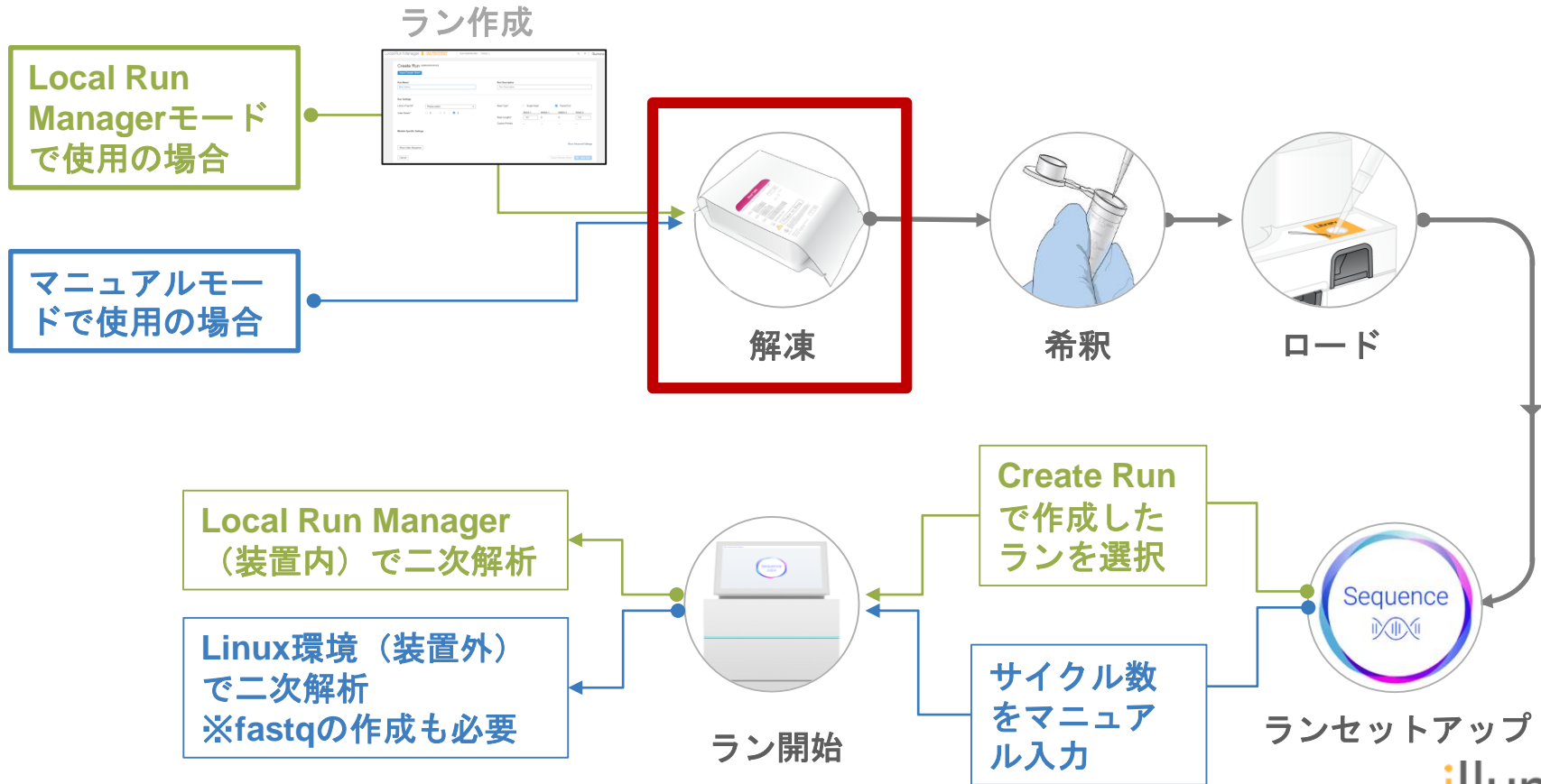


※ランセットアップの詳細は下記ウェビナーで紹介



<https://jp.illumina.com/events/webinar/2019/webinar-190422-j.html>

# iSeq 100のシーケンスワークフロー



# 試薬の融解



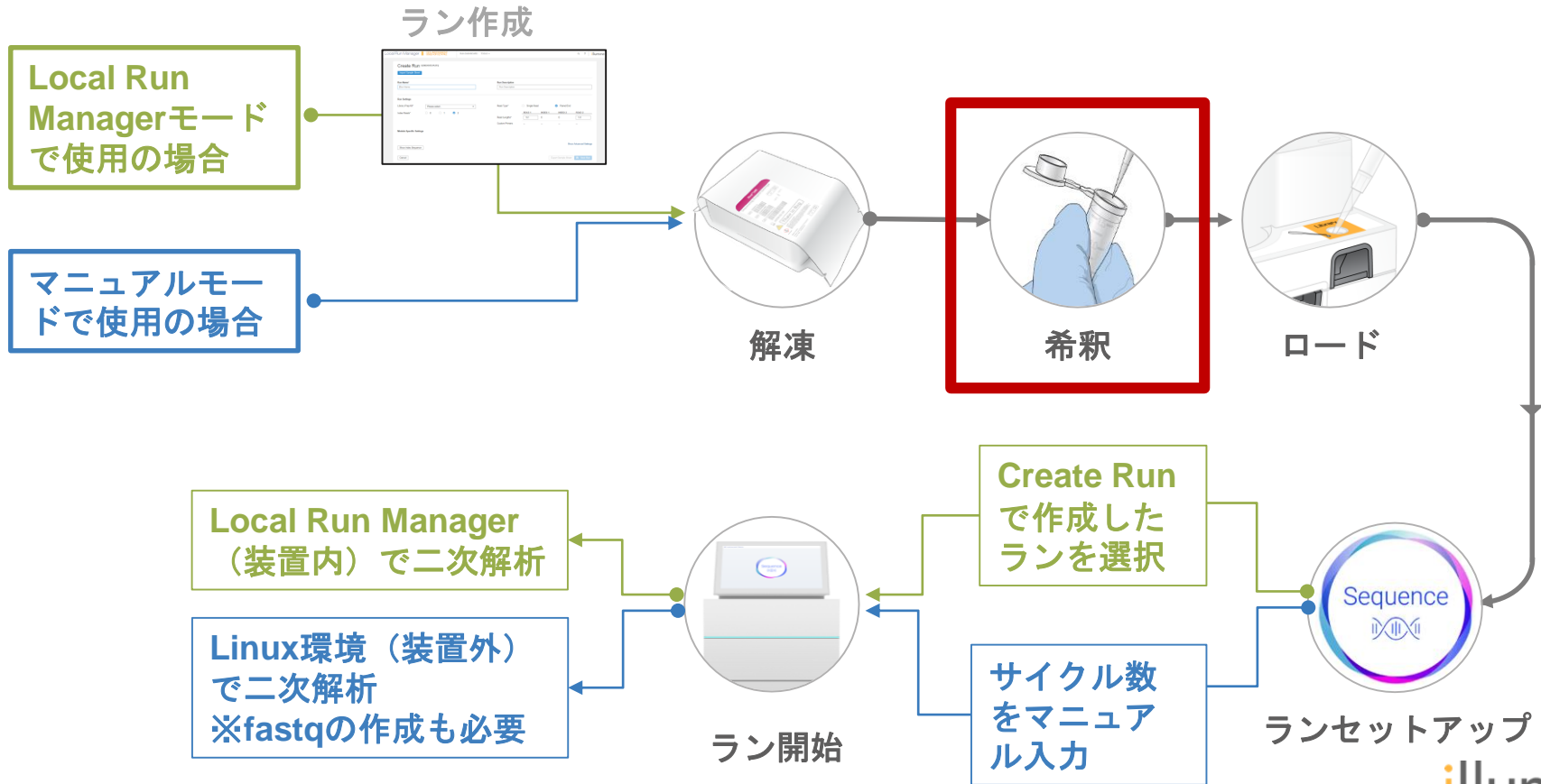
- ホイルバッグに入れたまま試薬カートリッジ (-20°C保存品) を溶かす
- 下記いずれかの方法で融解させる：

方法	融解時間	安定限界	手順
20°C ~ 25°C、 ウォーターバス	6 時間	~18 時間	・ウォーターバスに十分量の水を準備する ・ウォーターバスを 25°C にセットするか水温を 20°C ~ 25°C になる ように準備する ・カートリッジをラベルが上に向くように完全に沈め、おもりを乗せて浮かんでこないようにする
4°C ~ 8°C、 冷蔵庫	36 時間	~72 時間	・ラベルが上を向くようにカートリッジを置き、底面を含むすべての面が空気が循環するようにする
室温、 実験台など	9 時間	~18 時間	・ラベルが上を向くようにカートリッジを置き、底面を含むすべての面が空気が循環するようにする

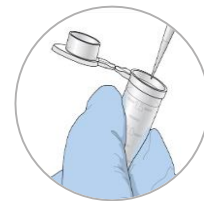
- つねにラベルを上向きにしたまま融解させる
  - 融解後、再凍結させない
  - ドライアイスで到着した直後にウォーターバスに漬けることはしない



# iSeq 100のシーケンスワークフロー



# シーケンスのためのライブラリの準備



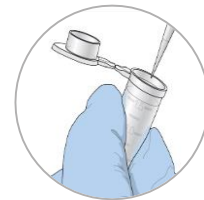
- **ライブラリを 1 nM に希釈する**
  - Resuspension buffer (RSB) もしくは 10mM Tris-HCl, pH 8.5 を使用して希釈する
- **適切なローディング濃度に希釈した 100  $\mu$ l のライブラリ溶液を準備する :**

Library Type*	Loading Concentration (pM)	1 nM Library Volume ( $\mu$ l)	RSB Volume ( $\mu$ l)
100% PhiX	60	6	94
AmpliSeq Library PLUS for Illumina	50	5	95
Nextera DNA Flex	200	20	80
Nextera Flex for Enrichment	100	10	90
TruSeq DNA Nano	100	10	90
TruSeq DNA PCR-Free	100	10	90

- 上記リストにないタイプのライブラリでは 50 pM のローディング濃度から開始し、次回以降のランで最適化を行っていく

※最適なローディング濃度はライブラリタイプにより変動する

# PhiXのスパイクインについて



## ● PhiX とは?

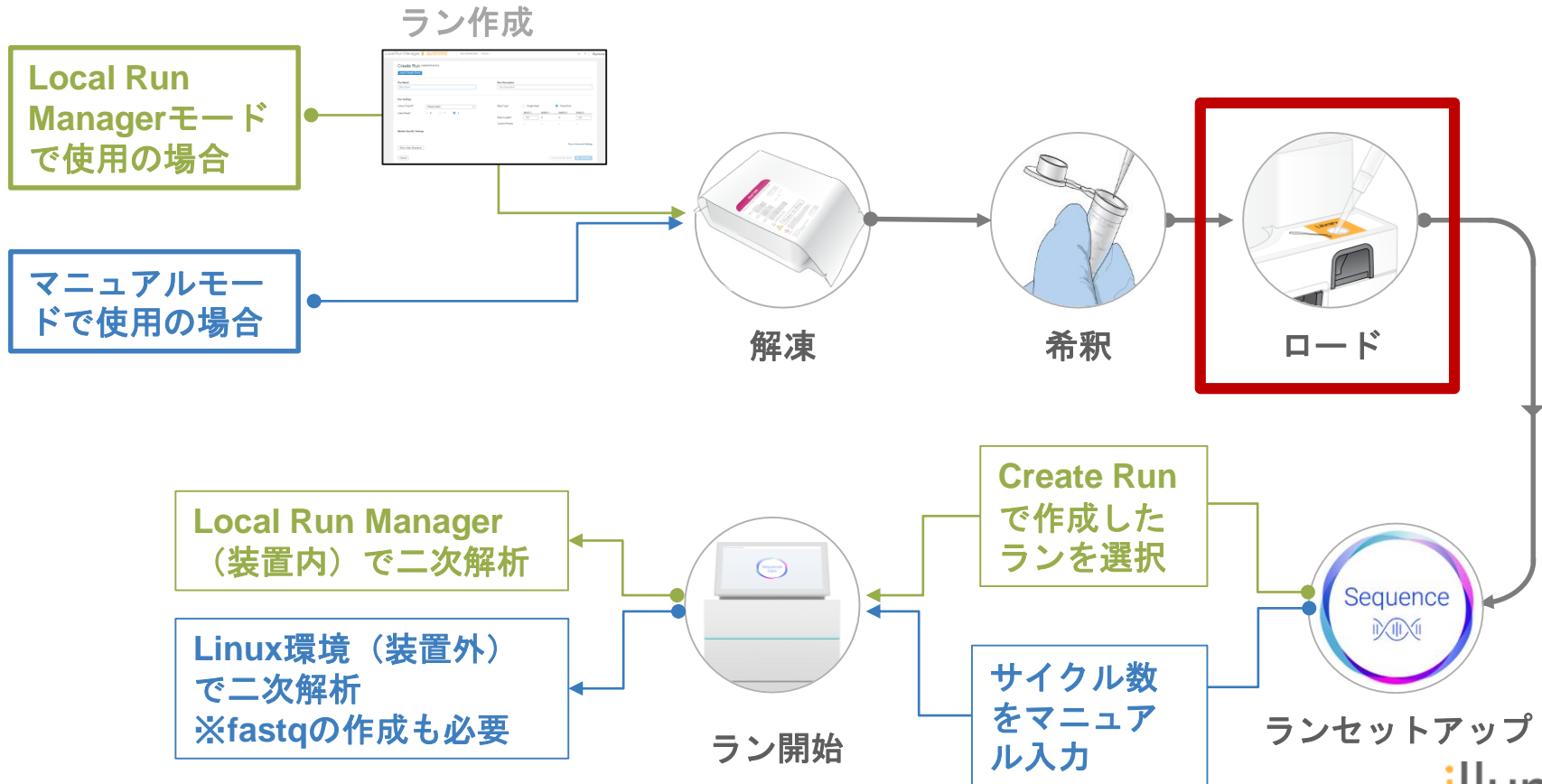
- ウィルス由来の短くて配列の判っているコントロールライブラリ
  - 追加の統計情報、塩基出現の多様性の付与、シーケンスのポジティブコントロール、といった利点をもたらす
- RSB で PhiX を 1 nM に希釈する
- 添加するライブラリと同じ濃度に PhiX をさらに希釈する :

PhiX Loading Concentration (pM)	1 nM PhiX Volume ( $\mu$ l)	RSB Volume ( $\mu$ l)
50	5	95
200	20	80

- 2  $\mu$ l の希釈済 PhiX を、100  $\mu$ l の希釈ライブラリに加えることで~2% PhiX spike-in となる
  - シーケンシングデータにおける PhiX の実際の割合は、ライブラリの品質と量によって異なる

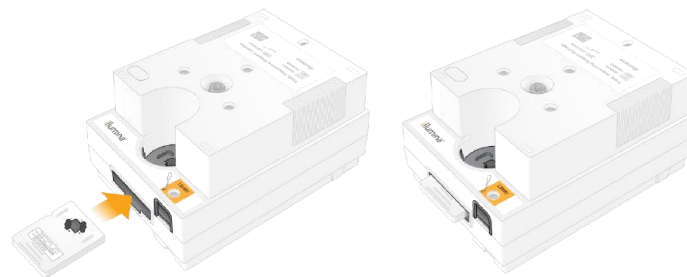


# iSeq 100のシーケンスワークフロー

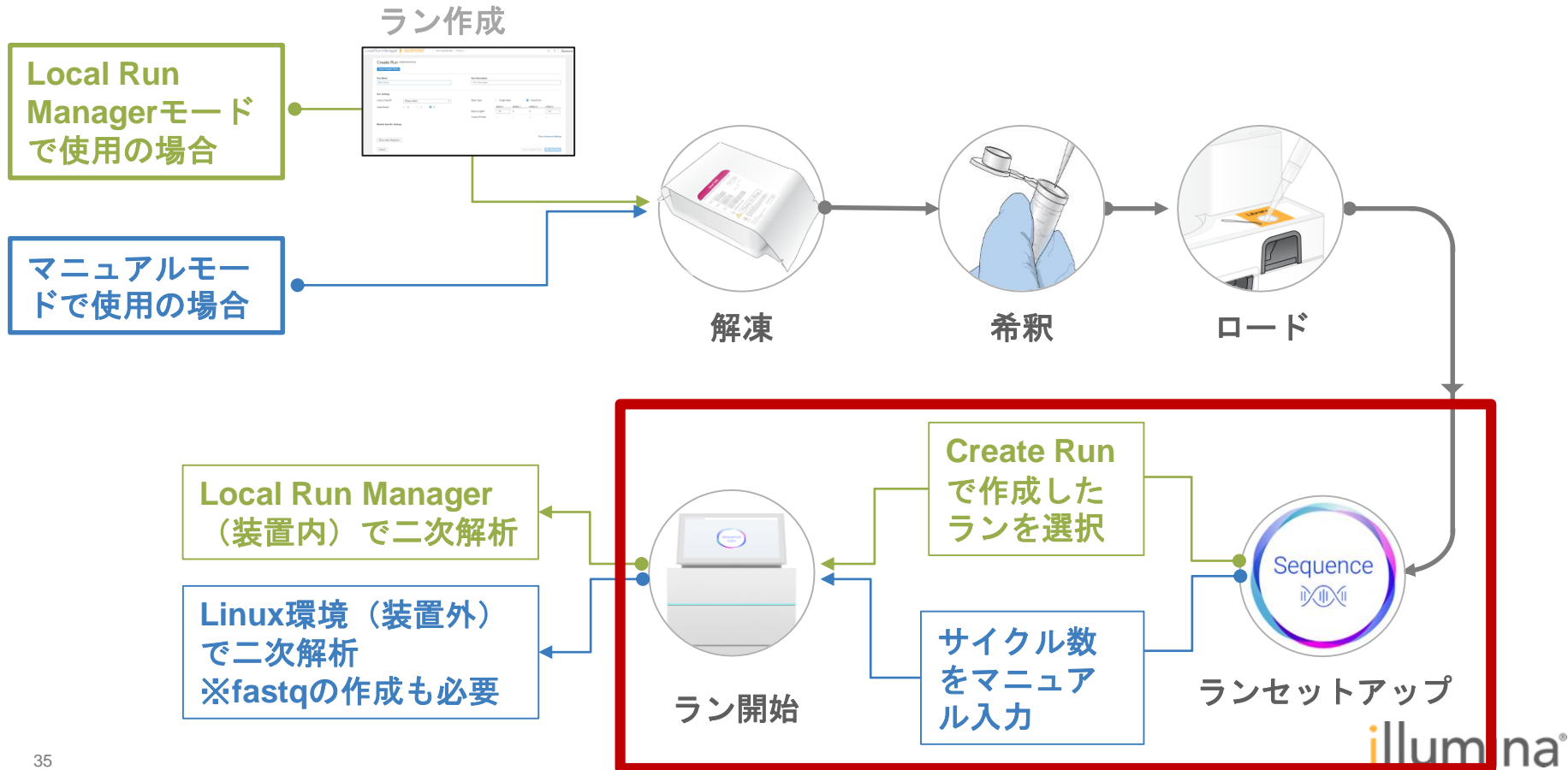


# カートリッジへのロード

- パッケージを破って開封
- 5回転倒混和し、机に軽く叩きつけ泡抜き
- ライブラリのロード
  - ピペットチップを使用してライブラリリザーバーのホイルに穴を開ける
  - 20  $\mu$ l のライブラリをリザーバーの底に加える
- フローセルのロード
  - フローセル（4°C保存品）は結露を防ぐために冷蔵庫から取り出したあと袋のまま室温に 10-15 分置いておく



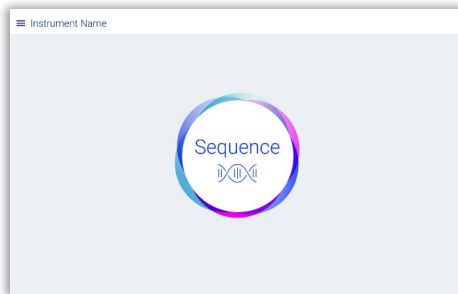
# iSeq 100のシーケンスワークフロー



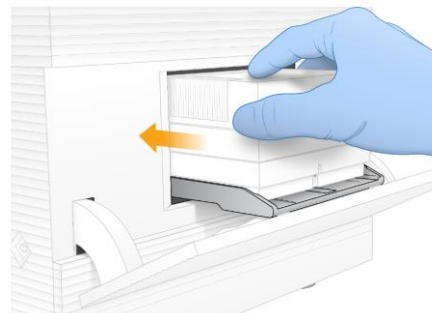
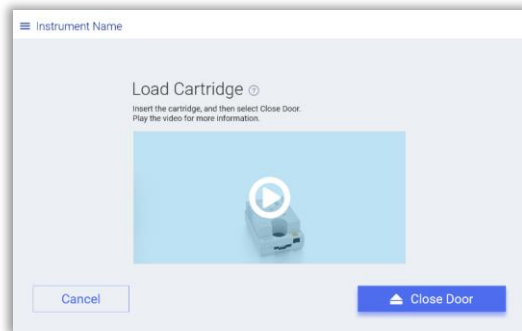
# ランセットアップ



- **Sequence** を選択



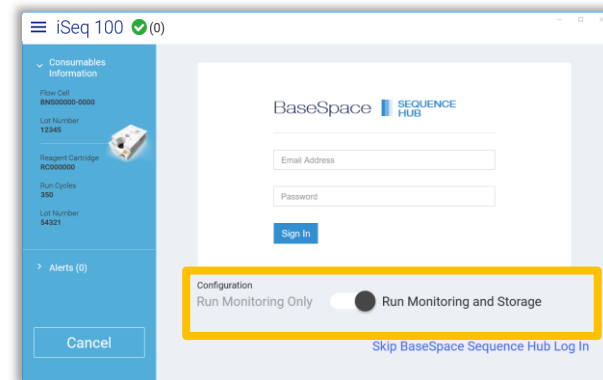
- **消耗品をロード**



# セットアップ – BaseSpace Sequence Hubを使用する場合



- BaseSpace Sequence Hub にログインする
- Run Monitoring Only
  - リモートでのモニタリングのためにランメトリックのみ送信
- Run Monitoring and Storage
  - BaseSpace Sequence Hub にランデータを送信し、リモートでのモニタリングに加えて解析も可能
    - このオプションではサンプルシートが必要となる

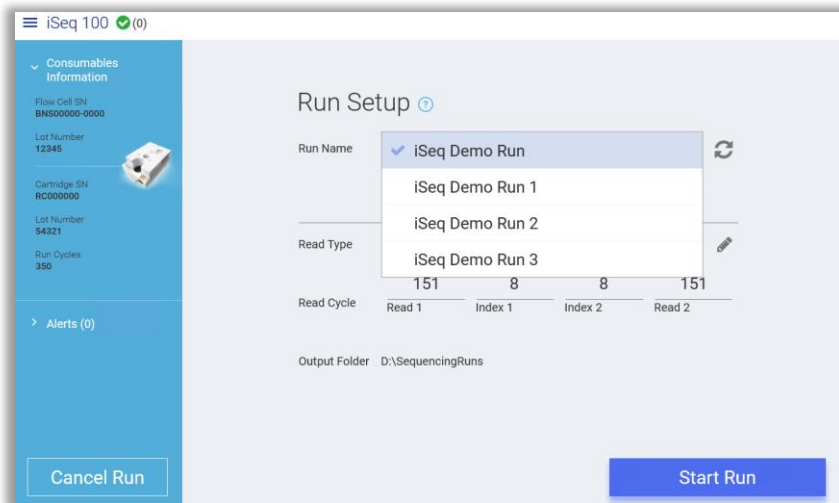
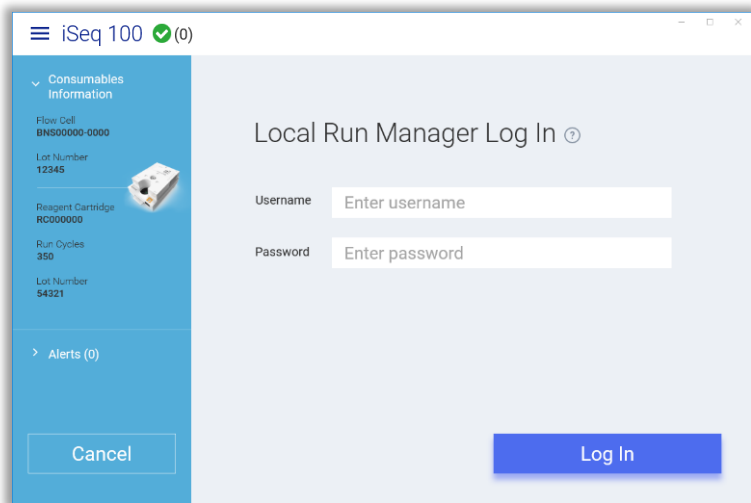


※上記設定が必要ない場合は **Skip BaseSpace Sequence Hub Log in** をクリック

# セットアップ- Local Run Manager Mode



- ランを選択し、Start Runをクリック
    - 設定していたランを選ぶ（ラン条件が出てこない場合は🔄をクリック）
- ※ユーザー管理機能をオンにしている場合はログインが求められる



# セットアップ – Manual Mode



- ランパラメーターを設定し、Start Runをクリック

iSeq 100 (0)

Consumables Information

Flow Cell  
BN000000-0000  
Lot Number  
72345

Reagent Cartridge  
RC000000  
Run Cycles  
350  
Lot Number  
54321

Alerts (0)

Run Setup

Run Name   
Specify a run name.

Read Type  Single Read  Paired End

Read Cycle      
Read 1 Index 1 Index 2 Read 2  
Maximum number of cycles allowed by the cartridge has been exceeded.

> Advanced

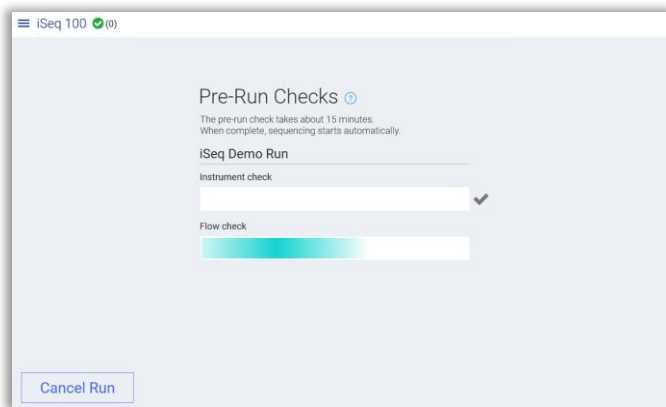
Cancel Start Run

- >Advanced を選択することで、アウトプットフォルダの編集や個々のライブラリのインデックス情報を持つサンプルシートを加えることができる
  - テンプレートをダウンロードしてファイル名を SampleSheet.csv とする必要がある

# プレランチェック



- **Start Runをクリックするとプレランチェックが自動的に開始**
  - この工程内のFlow checkで、カートリッジ内のシールに穴が開けられバッファーがフローセルに流し込まれる
    - Flow check以降は消耗品の再利用は不可



- プレランチェックにはおおよそ15分かかる
- ランはプレランチェックが正常に完了すると自動で開始される



# ランモニタリング



The screenshot shows the iSeq 100 software interface. At the top, it says 'iSeq 100' with a green checkmark and '(0)'. The main window is titled 'Sequencing...' and features a large circular progress indicator. Inside the circle, it says 'Estimated run completion' and 'Today 11:07 AM'. To the right of the circle is a small table titled 'iSeq Demo Run' with the following data:

iSeq Demo Run	
%Q30 Read 1	97.6%
%Q30 Read 2	97.6%
Projected Output	1.4 Gb

At the bottom left of the window is a 'Cancel' button. Three callout boxes provide additional information:

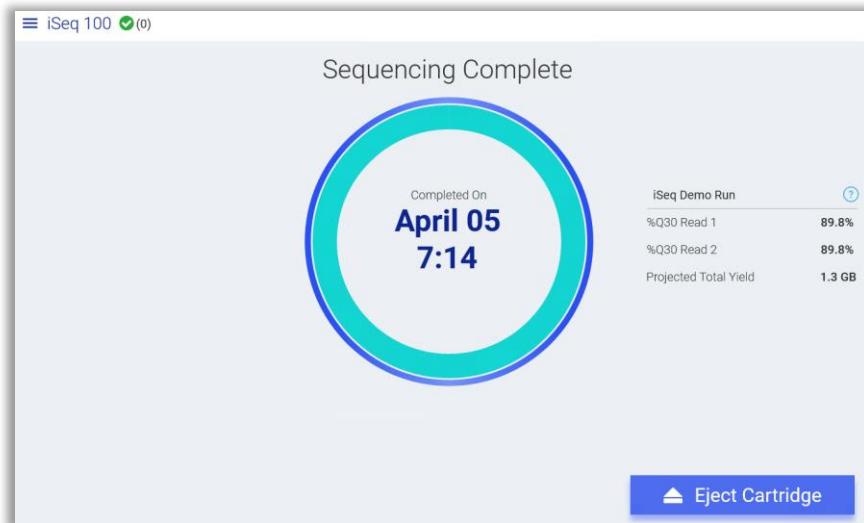
- 完了予定時刻:** リード長により決定される (Completion estimated time: determined by read length)
- 一度キャンセルを選択すると再開はできない** (Once you select cancel, you cannot restart)
- ランメトリック:**
  - ・ %Q30
  - ・ 予想出力塩基数 (25 サイクル以降表示) (Expected output number of bases (displayed after 25 cycles))※Control Software v1.4以降は上記に加え%Clusters PF, %Occupancyが表示 (From Control Software v1.4 onwards, %Clusters PF, %Occupancy are also displayed)

- Paired-end 2x151 bp, dual index 8+8 ランはおおよそ 17.5 時間かかる

# iSeq 100 ラン後の手順

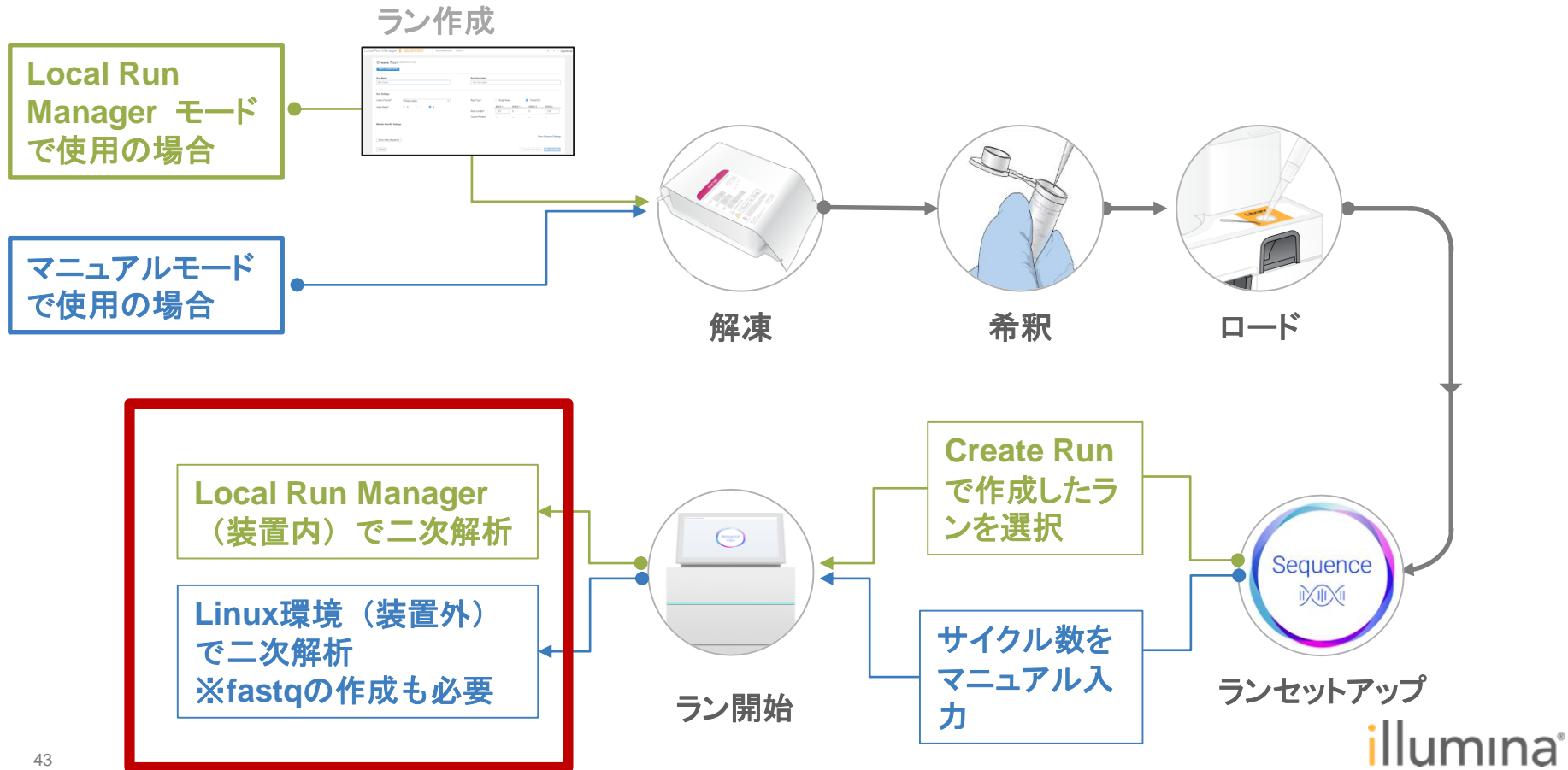


- ランが完了したら、[Eject Cartridge] を選択する

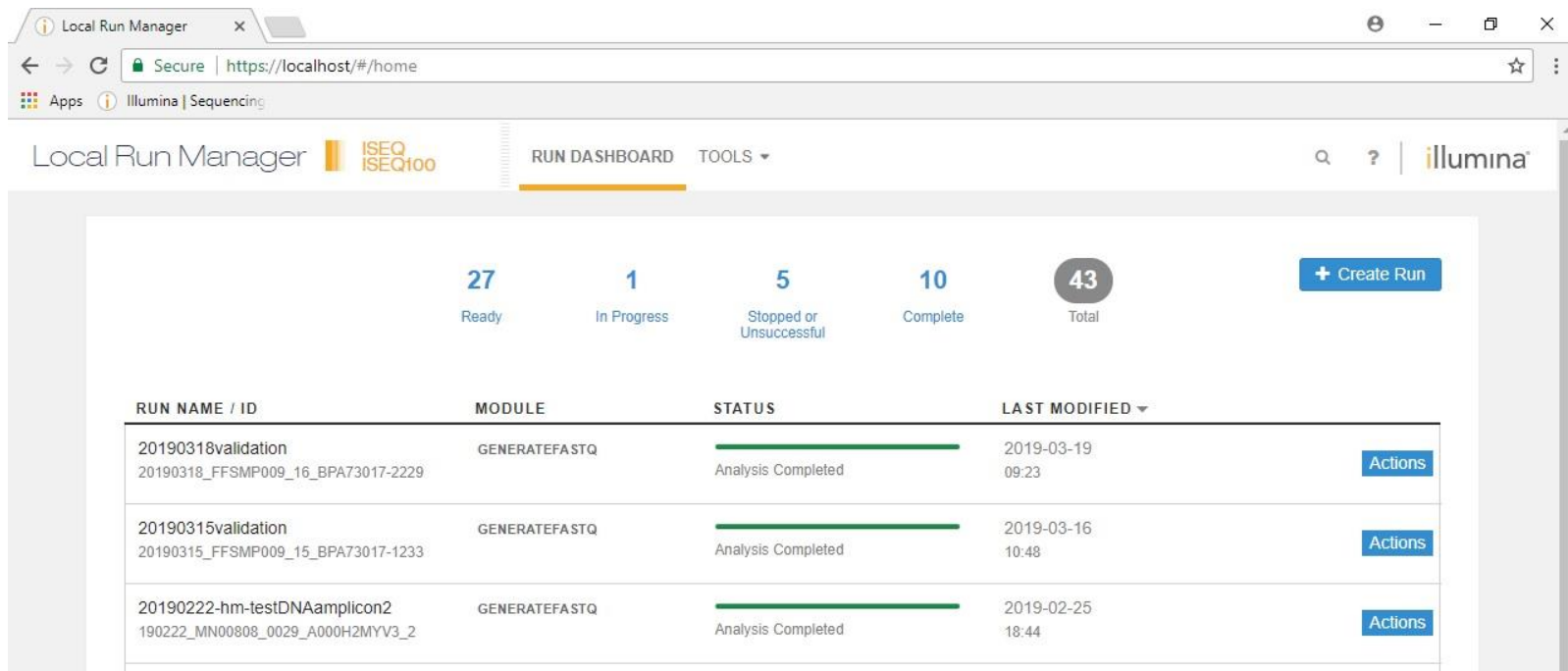


- フローセルとカートリッジを自治体や施設に適用される基準に従って廃棄する（廃液タンクはカートリッジ内蔵）

# iSeq 100のシーケンスワークフロー



# 解析状況・結果の閲覧



- Local Run MangerのDashboard から解析状況の確認が可能
- 解析結果は該当するランを選択することで閲覧可能

# 解析結果

## Run Overview

RUN OVERVIEW SEQUENCING INFORMATION SAMPLES & RESULTS [Requeue Analysis](#)

**Run Name** 20190318validation  
**Run ID** 20190318\_FFSPMP009\_16\_BPA73017-2229  
**Created By** System User  
**Description**  
**Output Run Folder**  
D:\SequencingRuns\20190318\_FFSPMP009\_16\_BPA73017-2229

Analysis Completed  
Successfully completed in 8.35 minutes

**Total Clusters** 7,688,000  
**% Clusters PF** 76.5%  
**% ≥ Q30 (Read 1)** 96.3%  
**% ≥ Q30 (Read 2)** 94.8%  
**Last Scored Cycle** 302

## Sequencing Information

RUN OVERVIEW SEQUENCING INFORMATION SAMPLES & RESULTS [Requeue Analysis](#)

**Instrument Name** FFSPMP009  
**Sequenced By** System User  
**Sequencing Start** 2019-03-18 16:09  
**Module Version (Created With)** 2.0.0

**Read Lengths**

READ 1	INDEX 1	INDEX 2	READ 2
151	0	0	151

**Flow Cell Information**

**Barcode** BPA73017-2229  
**Part Number** 20009555  
**Lot Number** 20324613  
**Expires** 2019-12-05T00:00:00.0000000

**Reagent Cartridge Information**

**Barcode** FY0014555-FC6  
**Part Number** 20025914  
**Lot Number** 20313262  
**Expires** 2019-09-06T00:00:00.0000000

## Samples and Results

RUN OVERVIEW SEQUENCING INFORMATION SAMPLES & RESULTS [Requeue Analysis](#)

**Select Analysis** Analysis 1  
**Analysis Folder** D:\SequencingRuns\20190318\_FFSPMP009\_16\_BPA73017-2229

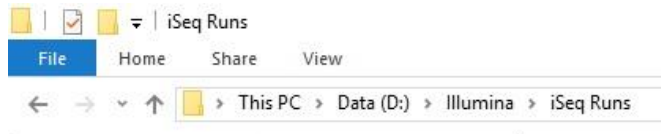
Analysis completed

SAMPLE ID	SAMPLE DESCRIPTION	INDEX 1 (I7)	INDEX 2 (I5)
1	Phix		

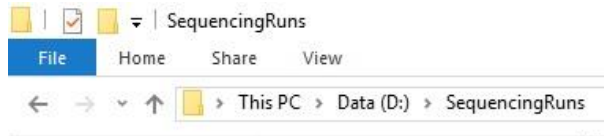
# ランフォルダはどこにある？（デフォルト設定）

- ランごとに2つのランフォルダが作成される

-ひとつ目はD:¥Illumina¥iSeq Runs



-ふたつ目はD:¥SequencingRunsあるいは指定されたネットワークに作成



- マニュアルモードでランをした場合は、上記保存先からランフォルダを丸ごとコピーし、別途Linux環境でfastq作成を行う必要がある

# 解析結果はどこにある？（Generate FASTQの場合）

Run Name: 20190318validation  
Run ID: 20190318\_FFSMP009\_16\_BPA73017-2229  
Created By: System User  
Description: **Output Run Folder**  
D:\SequencingRuns\20190318\_FFSMP009\_16\_BPA73017-2229

Analysis Completed  
Successfully completed in 8.35 minutes

Total Clusters	7,688,000
% 2 Q30 (Read 1)	76.5%
% 2 Q30 (Read 2)	96.3%
% 2 Q30 (Read 2)	94.8%
Last Scored Cycle	302

20190318\_FFSMP009\_16\_BPA73017-2229

Name	Date modified	Type	Size
Alignment_1	3/19/2019 9:23 AM	File folder	
Config	3/18/2019 4:09 PM	File folder	
Data	3/18/2019 9:01 PM	File folder	

Alignment\_1

Name	Date modified	Type	Size
20190319_091434	3/19/2019 9:23 AM	File folder	

20190319\_091434

Name	Date modified	Type	Size
Fastq	3/19/2019 9:23 AM	File folder	
Logging	3/19/2019 9:23 AM	File folder	
AdapterCounts.txt	3/19/2019 9:23 AM	Text Document	1 KB
AdapterTrimming.txt	3/19/2019 9:23 AM	Text Document	4 KB
AnalysisError.txt	3/19/2019 9:23 AM	Text Document	1 KB

- 出力ファイルと出力先は解析モジュール毎に異なる
  - 各解析モジュールのWork Flow Guideを参照
- Generate FASTQの場合、fastqファイル出力先は、左記のフォルダ構造（デフォルト設定）
- Local Run Manager内「Output Run Folder」がランフォルダの場所を示す

Fastq

Name	Date modified	Type	Size
FastqSummaryF1L1.txt	3/19/2019 9:23 AM	Text Document	1 KB
Phix_S1_L001_R1_001.fastq.gz	3/19/2019 9:23 AM	GZ File	404,483 KB
Phix_S1_L001_R2_001.fastq.gz	3/19/2019 9:23 AM	GZ File	419,883 KB
Undetermined_S0_L001_R1_001.fastq.gz	3/19/2019 9:23 AM	GZ File	1 KB
Undetermined_S0_L001_R2_001.fastq.gz	3/19/2019 9:23 AM	GZ File	1 KB

# Local Run Manager





# Local Run Manager

- 装置内蔵のソフトウェアソリューション
- ベンチトップ型シーケンサー用にデザイン：
  - iSeq™ 100以外にMiniSeq™, MiSeq™, NextSeq™ 500/550のデータ解析にも対応
- **Windows ベース（Windows 7および10と互換性あり）**
  - 装置外のwindows PC にもOff-Instrumentとしてインストール可能



# iSeqにインストールされているLocal Run Manager の特徴

## 2.x

### 様々な解析モジュールをインストール可能

Generate FASTQ, DNA Amplicon, RNA Amplicon, Amplicon DS, DNA Enrichment, Resequencing, Small RNA, TST15 v2, PCR Amplicon, Assembly, 16S Metagenomics, Library QC

→Local Run Managerサポートページから必要なモジュールのインストーラーをダウンロードし、インストールを行う

### 注意点

- ・ iSeq 100はPCのスペックが低いためモジュールによっては解析終了に数日時間を要する場合があります
- ・ Local Run Managerにはいくつかのフレームワークがある
- ・ 2.x フレームワーク専用のモジュールをウェブページからダウンロードし、インストールする必要がある  
※特にLocal Run Manager for MiniSeqの解析モジュールをダウンロードしないよう注意

# 解析モジュールのインストール

illumina®

SIGN IN | VIEW CART | 予算申請書類リクエスト | 論文要旨集リクエスト | お問い合わせ | SEARCH

SUPPORT RESOURCES

概要 Documentation Software Downloads Compatible Libraries Training Troubleshooting

SUPPORT HOME

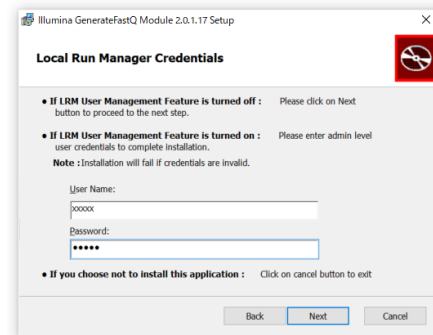
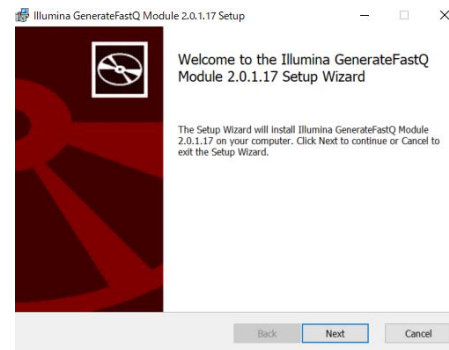
## Local Run Manager Generate FASTQ Analysis Module

Installer for the Local Run Manager Generate FASTQ analysis module.

^ View Options

Local Run Manager Generate FASTQ Analysis Module v2.0.1 Installer

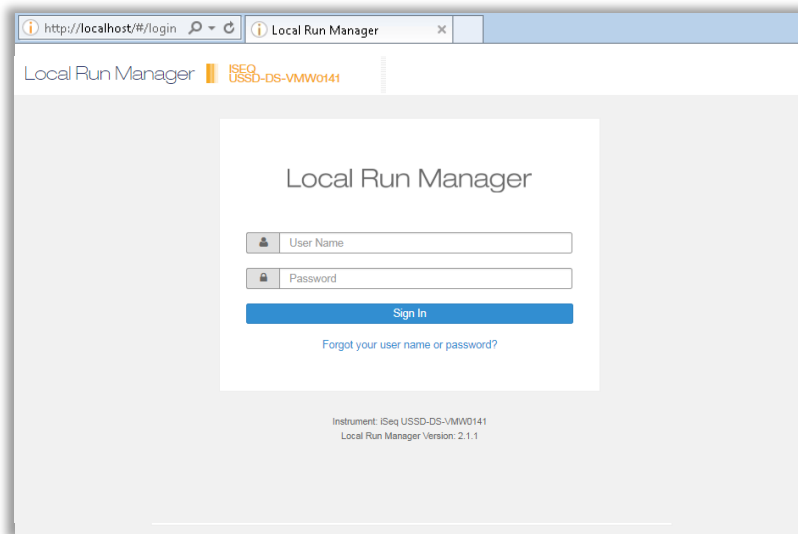
[http://jp.support.illumina.com/sequencing/sequencing\\_software/local-run-manager/downloads.html](http://jp.support.illumina.com/sequencing/sequencing_software/local-run-manager/downloads.html)



- ↓ Local Run Managerサポートページからインストーラーをダウンロード
- ↓ 装置Cドライブ直下のilluminaフォルダ内にインストーラーを移動
- ↓ インストーラーを立ち上げNextをクリック
- ↓ Local Run Managerでユーザー管理機能をオフにしている場合はそのまま、オンにしている場合はUser NameとPasswordを入力し、Nextをクリック
- ↓ 自動で解析モジュールがインストールされる

# Local Run Manager へのアクセス

- ウェブブラウザを介して閲覧する
  - 装置やインストールされた PC で直接 : **http://localhost/**
  - 同じネットワーク内のウェブブラウザから : **http://{ip address}/**
  - Chrome もしくは Chromium に最適化されている



# Local Run Managerログイン後の画面-Run Dashboard

- iSeq 100, MiSeq, Off-Instrument用のLocal Run Managerは同一のプラットフォーム

装置名とバージョン

ユーザー

Local Run Manager ISEQ USSD-DS-VMW0141 RUN DASHBOARD TOOLS David Silva illumina

43 Ready 0 In Progress 1 Stopped or Unsuccessful 1 Complete 45 Total + Create Run

RUN NAME / ID	MODULE	STATUS	LAST MODIFIED
Training2 --	DNA AMPLICON	Ready for Sequencing	2018-05-29 08:46
training --	GENERATEFASTQ	Ready for Sequencing	2018-05-29 07:39

# Local Run Managerの詳細

## ・ Local Run Managerサポートページ

The screenshot shows the Illumina support page for Local Run Manager. The header includes the Illumina logo and navigation links. The main content area is titled "Local Run Manager Support Resources". Below this, there are three columns of links: "Documentation" (Local Run Manager Software Guide, Generate FASTQ Analysis Module Guide, DNA Amplicon Analysis Module Guide, RNA Amplicon Analysis Module Guide), "Software" (Local Run Manager Generate FASTQ Analysis Module, Local Run Manager DNA Amplicon Analysis Module, Local Run Manager RNA Amplicon Analysis Module), and "Product Information" (Technical Bulletins, Specifications). A note at the top states: "This page supports on- and off-instrument versions of Local Run Manager. If you sequence AmpliSeq for Illumina panels on the MiniSeq System, visit Local Run Manager for the MiniSeq System Support."

[http://jp.support.illumina.com/sequencing/sequencing\\_software/local-run-manager.html](http://jp.support.illumina.com/sequencing/sequencing_software/local-run-manager.html)

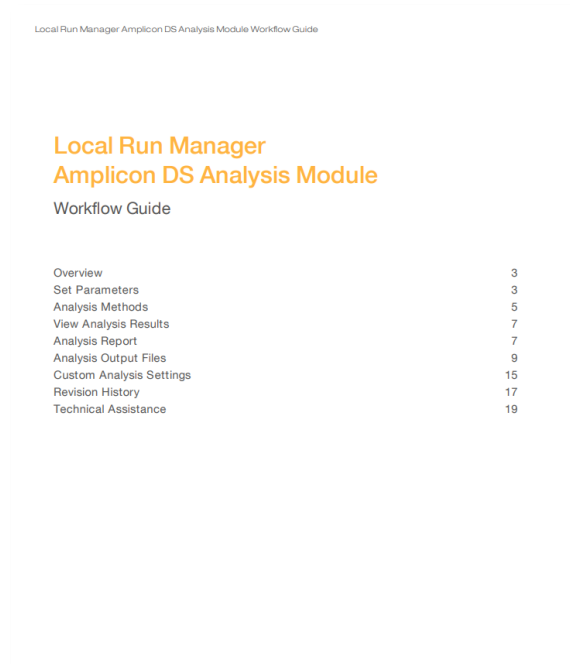
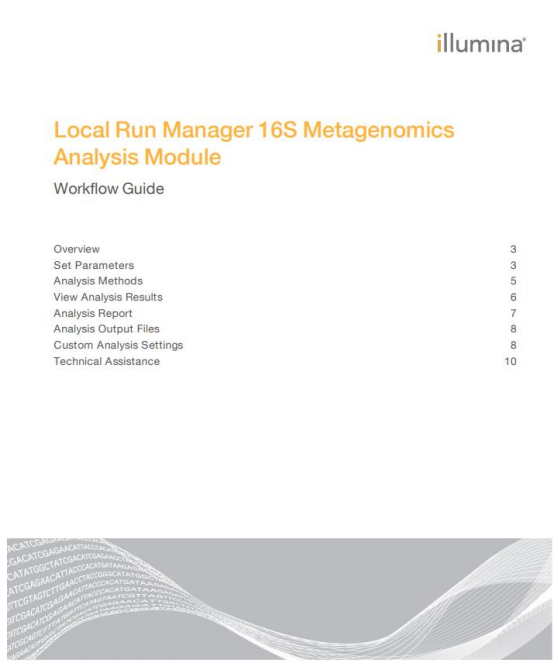
## ・ ウェビナー

The screenshot shows the Illumina webinar page. The header includes the Illumina logo and navigation links. The main content area is titled "新登場 MiSeq Control Software v3.1 / Local Run Manager v2.0 の紹介【イルミナiSchool ウェビナー】". Below this, there is a "詳細" (Details) section with a description: "2019年1月に MiSeq Control Software (MCS) v3.1 がリリースされました。大規模変更点として、内蔵解析ツールがこれまでの MiSeq Reporter から Local Run Manager (LRM) に変わりました。ランセットアップの際には、LRM、SampleSheet、マニュアル入力、の3つの方法が選択可能になっております。本ウェビナーでは今回のリリースによる MCS の変更点と LRM の機能について触れます。" There is a form to register for the webinar with fields for "Eメールアドレス", "国", and "電話番号". A "Download PDF" button is also present. The right sidebar shows "Date & Time" (2019/04/22), "Location" (Japan, Asia), and "Topic" (Life Sciences).

<https://jp.illumina.com/events/webinar/2019/webinar-190422-j.html>

# Local Run Managerではどのような解析が行われる？

-各解析モジュールのWorkflow Guideに詳細が記載



[http://jp.support.illumina.com/sequencing/sequencing\\_software/local-run-manager/documentation.html](http://jp.support.illumina.com/sequencing/sequencing_software/local-run-manager/documentation.html)

# トラブルシューティング





# トラブルシューートの推奨ワークフロー

Control Softwareがエラーを表示



エラーメッセージ画面をスクリーンショット等で保存し、  
イルミナテクニカルサポートへ連絡

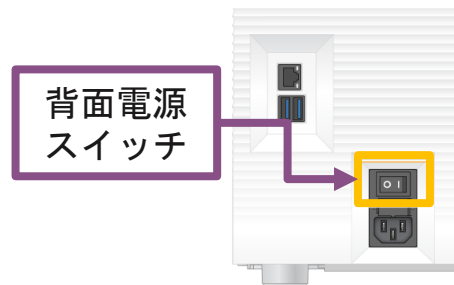
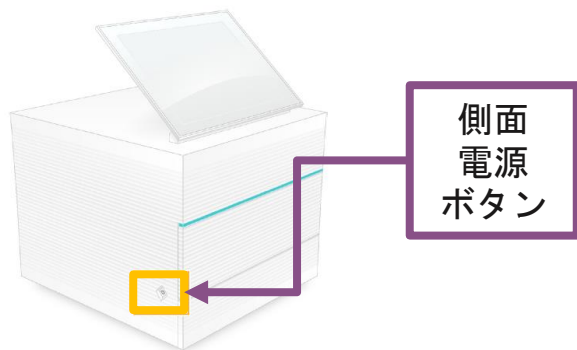
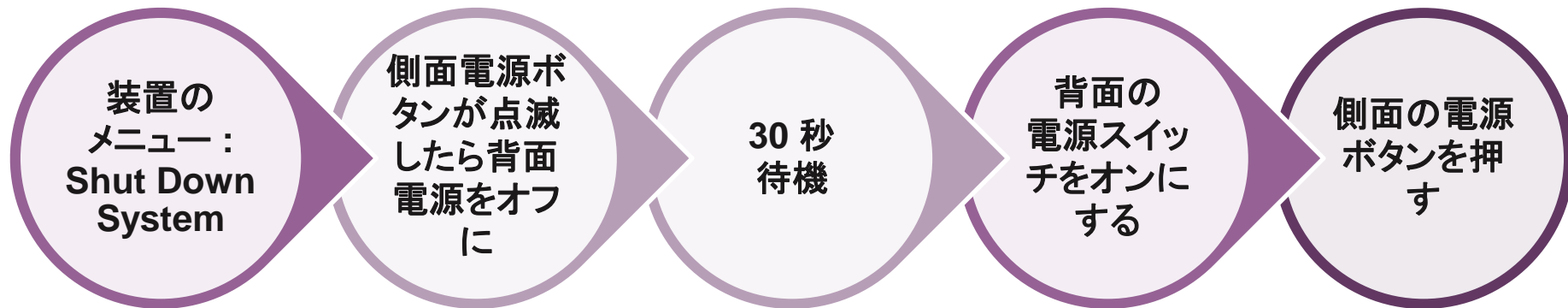


サポート担当者ご案内のもと、下記の実施にご協力いただく場合あり



- ・ イルミナへのランクオリティデータやログファイルの送付
- ・ 装置再起動
- ・ システムチェック

# 再起動の方法



# システムチェックの方法

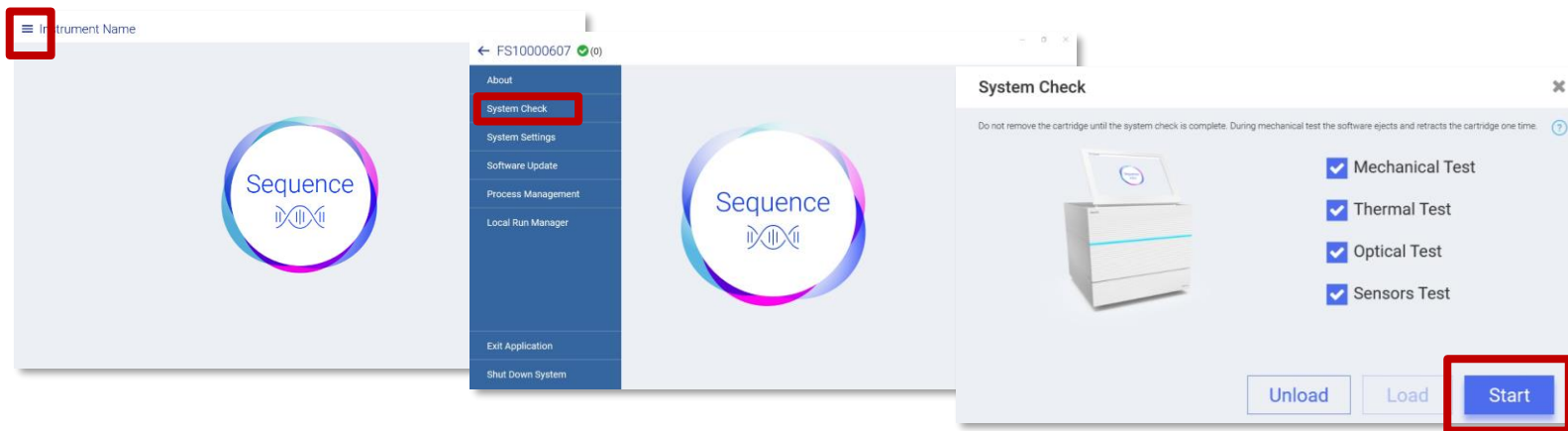
## 必要なもの:

- テストカートリッジ、テストフローセル

※どちらも再利用可能だが使用期限/使用限度に注意  
(使用期限/使用限度は5年/35回の短い方)



## 方法:

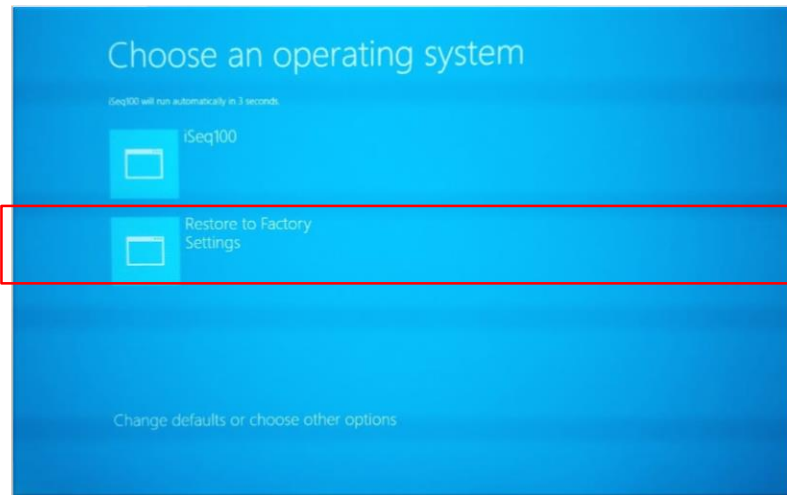


# 装置へのログインパスワードを忘れてたらどうすればいい？

- 装置へのログインパスワードはイルミナ側から確認・修正等が一切できない
  - 可能な限り忘れないパスワードを設定することを推奨
  - 最終手段として装置を工場出荷状態へ戻すことでパスワードはリセットされるが作業が煩雑

## ● 方法

- 装置を再起動し、「Restore to Factory Settings」を選択
- 装置起動時に5秒間プロンプトが表示される
- 確認の後、C:¥ドライブが消去され、コントロールソフトウェアがアンインストールされる
- iSeq Control Software をサポートページからダウンロードする
- テストカートリッジとテストフローセルを使用し、ソフトウェアのインストールを完了する
- Local Run Managerの解析モジュールをインストールする



# メンテナンス



# iSeq 100 装置メンテナンス



HDD のクリーン  
アップ



ソフトウェアアップ  
デート



予防メンテナンス

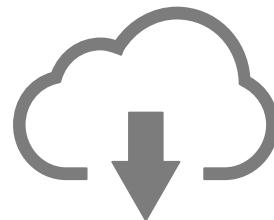
# HDD のクリーンアップ

- ランデータを定期的に削除することを推奨
- 各ランは ~2 GB の容量が必要
- コントロールソフトウェアから選択
  - *Process Management* を選択
  - *Delete Run* を選択
    - アクティブなランは削除不可
    - 出力フォルダは削除不可
  - ランの削除には *Yes* を選ぶ
  - *Done* を選んで作業を完了する



# ソフトウェアアップデート

- パッケージ化されたシステムスイートと呼ばれるソフトウェアアップデートで、下記が含まれている:
  - iSeq Control Software
  - iSeq 100 System Recipes
  - Real Time Analysis
  - Local Run Manager
- アップデートは自動または手動でインストールできる
  - オートマティックアップデートではインターネット接続が必要だが、BaseSpace Sequence Hubアカウントは必要ない
    - アップデートが利用可能になると、コントロールソフトウェアメニューに通知のアイコンが表示される
  - マニュアルアップデートではサポートページから System Suite のインストーラーをダウンロードし、USB経由で機器に転送する必要がある



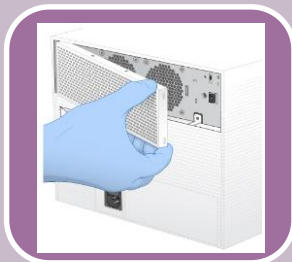


# 予防メンテナンス - エアフィルターの交換

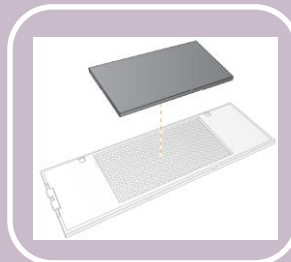
- コントロールソフトウェアは、最初のセットアップから6ヶ月ごとにエアフィルターの交換を促す



装置の裏側にある  
上部パネルの右側  
を押し外す



パネルを取り外す



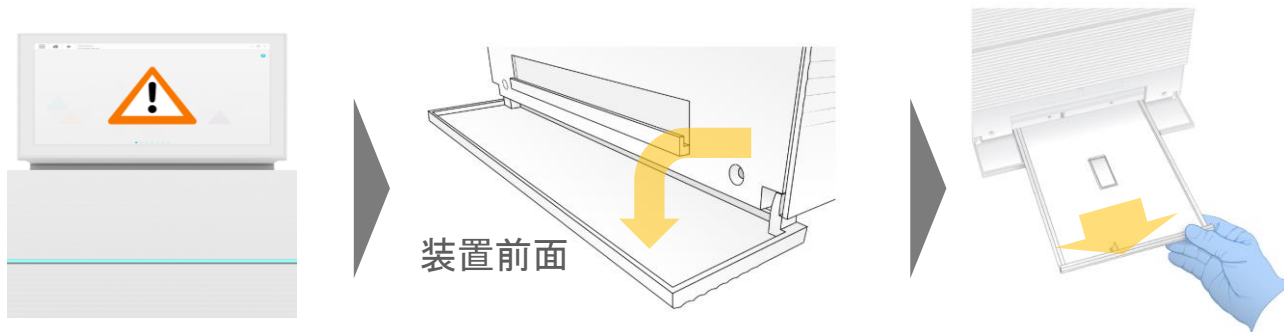
新しいエアフィ  
ルターをパネル  
にセットし、押  
して固定



2つのパネル  
フックを装置に  
挿入し、所定の  
位置に押し込む

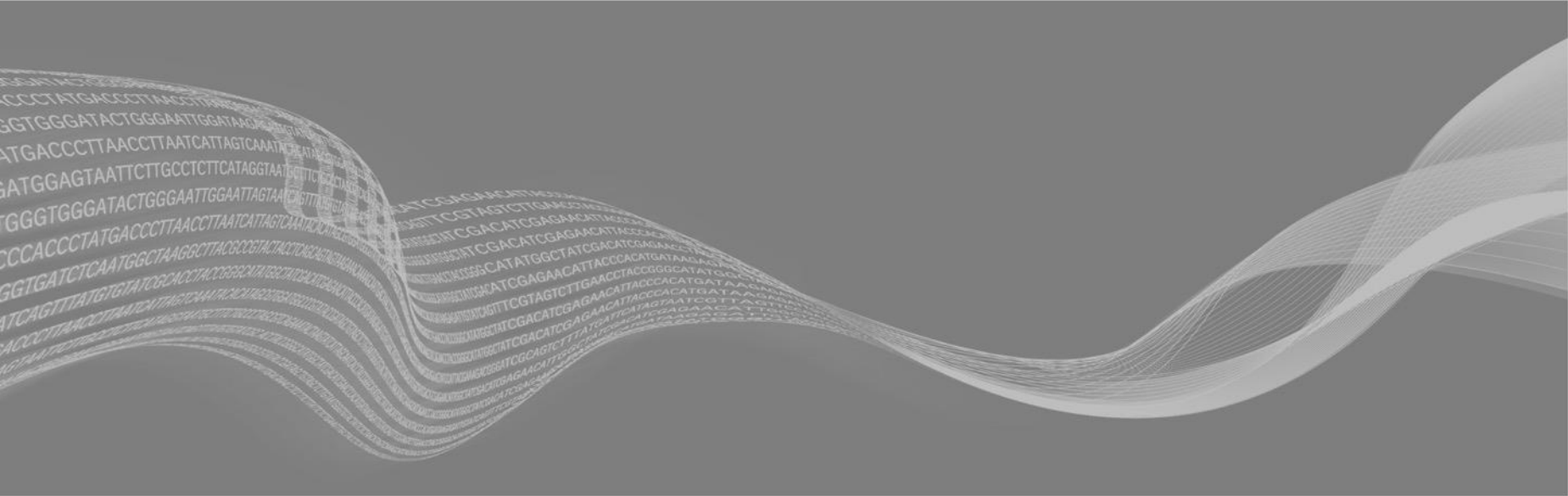
# 予防メンテナンス - ドリップトレイの交換

- まれなことではあるが、プレランチェックやシーケンス中に漏れが検出される
  - ソフトウェアはランを終了し、警告し、カートリッジを排出する
- 装置の底にあるドリップトレイによりカートリッジからの試薬漏れがキャッチされる
  - 通常状態ではドリップトレイは乾いている



- トレイ上に液体が見える場合は、装置ガイドに従ってパッドを交換する
- パッドの交換は年間保守の一環となる

# Illumina Proactive



# illumina Proactiveとは

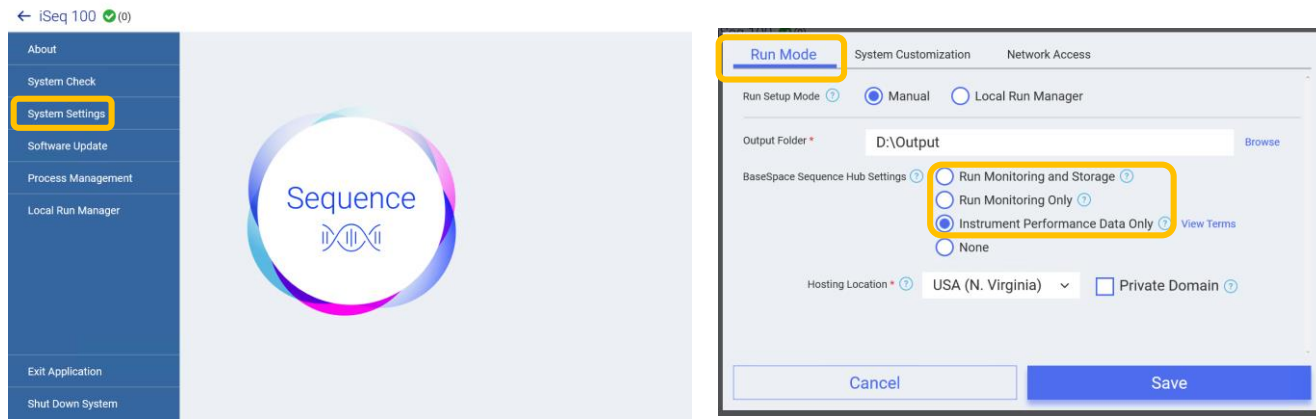
- **装置パフォーマンスデータの自動アップロード**
  - トラブルが発生した際に、お客様にデータをお送りいただく負担を軽減し、弊社サポートチームによる迅速な診断を可能にする
- **装置の故障リスクの自動検出**
  - リスクを自動検出し、予防的な修理を弊社のサポートチームよりプロアクティブにご提案
- **illumina Proactiveのメリット**
  - ダウンタイムの軽減
  - トラブルシューティングの効率化
  - 時間・労力・試薬・サンプルの損失の低減

# イルミナに送信される情報 - アップロードされるデータ

サンプルや配列の情報はモニターされず、イルミナからアクセスできない

	ランパフォーマンス	装置の設定	ランの設定
収集されるデータ	<ul style="list-style-type: none"><li>• Q-scores</li><li>• エラーレート</li><li>• 装置ログ</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• 装置シリアル番号</li><li>• ソフトウェアバージョン</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• ラン条件</li><li>• 試薬ロット番号</li><li>• 解析の設定とログ</li></ul>
目的	<ul style="list-style-type: none"><li>• 障害のリスク予測</li><li>• 障害の検出</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• ランのトラブルシューティング</li><li>• ソフトウェアのトラブルシューティング</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• ランのトラブルシューティング</li><li>• ソフトウェアのトラブルシューティング</li></ul>

# Illumina Proactiveを有効にする方法 (Control Software v1.3)



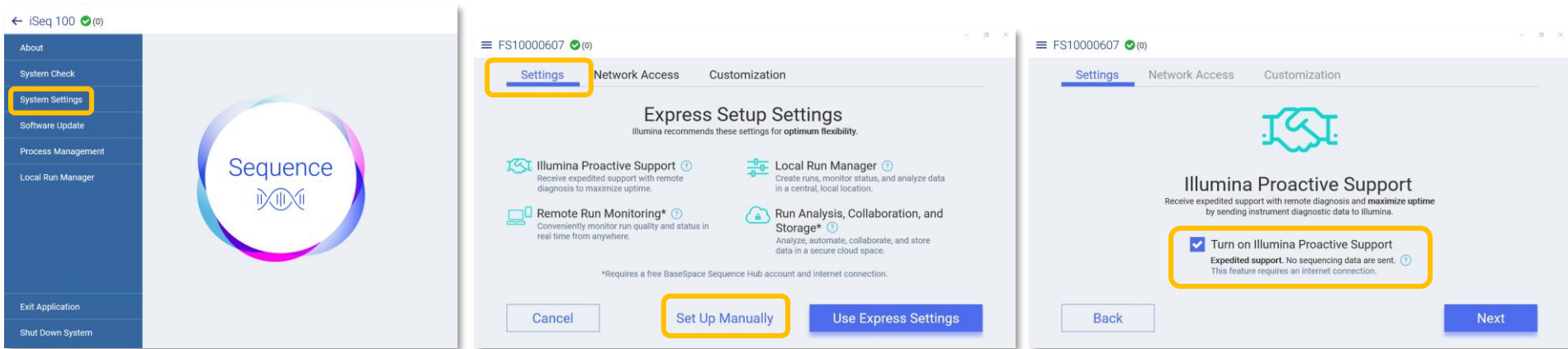
- ホーム画面から**System Settings**を選択
- **Run Mode**タブを選択
- **None**以外のいずれかをチェック

-Run Monitoring and Storage: クラウドにシーケンスデータも送信したい場合

-Run Monitoring: リモートでのモニタリングのためにランメトリックのみ送信する場合

-Instrument Performance Data Only: 前ページ記載のデータのみをイルミナへ送る場合

# Illumina Proactiveを有効にする方法 (Control Software v1.4以降)



- ホーム画面から**System Settings**を選択
- **Settings**タブを選択→**Set Up Manually**をクリック
- **Turn on illumina Proactive Support**をチェック

# illumina Proactiveについての詳細情報 – ウェブページ



サービス / 装置関連サービス、トレーニング & コンサルティング / 製品サポートサービス  
Proactive装置モニタリング

## Proactive装置モニタリング

illumina Proactiveは、無料で提供される安全な遠隔装置モニタリングと予防的サポートのサービスです。illuminaは、お客様のラボにとって、安定した装置の稼働がきわめて重要であると考えています。そのため、計画外のダウンタイムを最小限に抑え、不要なサンプルのロスを回避できるよう、修理が必要になる前にその必要性を予測することで、お客様のお役に立てるべく、努力しています。

お客様がお使いの装置をillumina Proactiveと接続することで、業務に支障が及ぶ前に故障リスクを知ることができます。illuminaのサービスサポートチームは、装置性能データを解析し、必要に応じてトラブルシューティングを行い、お客様と連携して必要なメンテナンスのスケジュールを作成します。

## Proactive装置モニタリングの利点

お使いのシーケンサーをillumina Proactiveに接続していただくと、以下のようなサポートをご提供できます：

- 装置稼働時間の最大化  
あらかじめ故障リスクを検出することで、お客様のご都合に合わせてメンテナンスや修理を予定に入れることができます。
- より効果的なトラブルシューティングの実施  
illuminaサービスサポートチームは装置性能データへアクセスすることで遠隔で装置リスクを迅速に評価し、トラブルシューティングを行うことができます。
- リソースの喪失を回避  
稼働中の故障を予防することで、それに伴う時間、労力、試薬、そして貴重なサンプルのロスを抑えます。

### illumina Proactiveサービスの概要

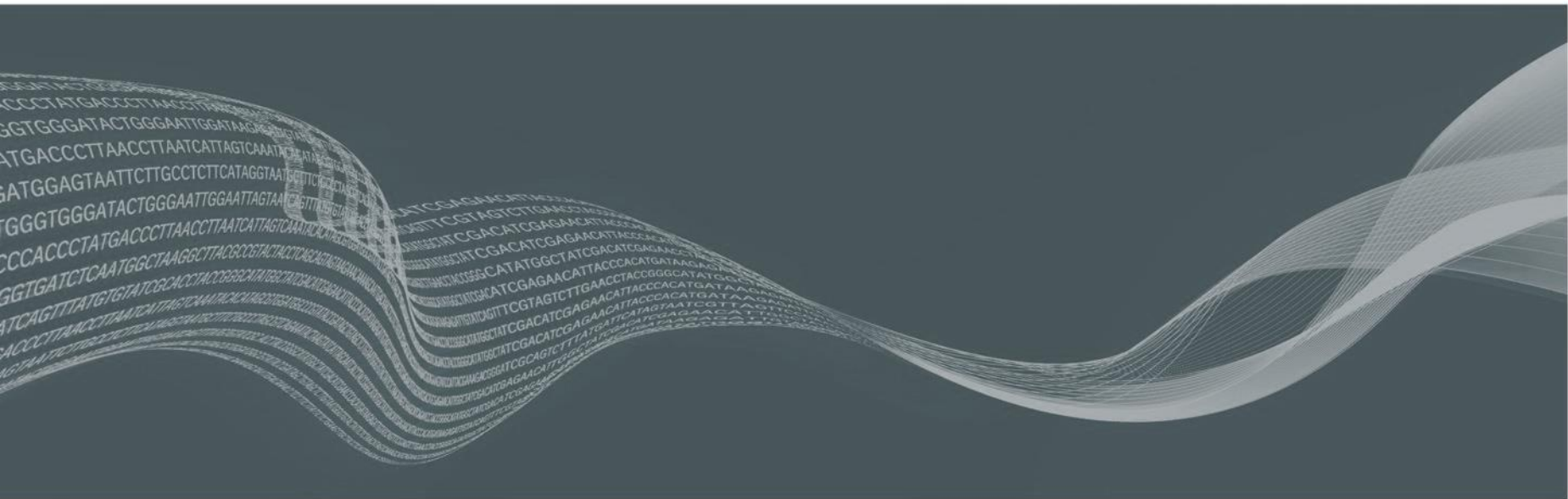
リアルタイム装置モニタリングの活用法と、接続方法のご案内。

PDFを読む

<https://jp.illumina.com/services/instrument-services-training/product-support-services/instrument-monitoring.html>



# 補足情報



# iSeq 100 Sequencing System Guide

illumina

## iSeq 100

Sequencing System Guide



文書番号：1000000036024 v03 JPN  
2018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。

ILLUMINA PROPRIETARY

## 目次

第1章 概要	1
はじめに	1
追加リソース	2
システムコンポーネント	3
iSeq 100 i1 概要	7
第2章 はじめに	11
初回セットアップ	11
バリデーション用ラン	11
コントロールソフトウェアの最小化	12
ラン設定の設定	12
システム設定のカスタマイズ	15
ネットワーク設定の設定	16
ユーザーが用意する消耗品および機器	16
第3章 シーケンス	19
はじめに	19
11リード内のサイクル数	19
ベストプラクティス	20
袋入りカートリッジの脱着	20
フローセルとライブラリーの準備	21
消耗品のカートリッジへのロード	23
シーケンスランの設定 (Local Run Managerモード)	25
シーケンスランの設定 (Manualモード)	28
第4章 メンテナンス	31
ハードドライブベースのクリア	31
ソフトウェアのアップデート	31
エアフィルターの交換	33
設置の再設置	35
ソフトウェア制限ポリシー	36
付録A シーケンスの出力	39
Real-Time Analysis概要	39
Real-Time Analysisワークフロー	41
付録B トラブルシューティング	45
エラーメッセージの解消	45
ランの取り直し	46
装置の再起動	46
システムチェックの実施	47
漏れの検知	49
工場出荷時の設定を回復	52

文書番号：1000000036024 v03 JPN  
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。

v

付録C 事前交換	53
iSeq 100システムの交換	53
交換用システムの受け取り	53
オリジナルシステムの返品準備	53
オリジナルシステムの返品	57
索引	60
テクニカルサポート	66

文書番号：1000000036024 v03 JPN  
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。

vi

<http://jp.support.illumina.com/downloads/iseq-100-system-guide-1000000036024.html>

# Web-Based Trainings

illumina®

SIGN IN | VIEW CART | 予算申請書類リクエスト | 論文要旨集リクエスト | お問い合わせ | ロケーション選択

研究分野 | 研究手法 | システム | 製品・サービス | インフォマティクス | サイエンスと教育 | カンパニー | サポート

SEARCH

システムの全リスト

iSeq 100 の概要 | アプリケーション | 仕様 | バーチャルツアー | 学ぶ | 製品 | ご使用の前に | More

お問い合わせ

## iSeq 100システムをご使用の前に



iSeq™ 100

ラボの準備

学ぶ

開梱

設置

実行

サポート

<https://jp.illumina.com/systems/sequencing-platforms/iseq/how-to-start.html>

サポートウェビナーにご参加いただき  
ありがとうございました。

本日のセッション終了後のご質問は、  
[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)  
で承ります。

テクニカルサポート直通のフリーダイヤルも  
ご利用ください(AM9 – PM5)。

[0800-111-5011](tel:0800-111-5011)