

【NextSeq™ 1000/2000】 XLEAP-SBS™試薬の特長と 使用法のご案内

2025年 1月 7日

イllumina株式会社 サービスサポート部
フィールドアプリケーションサイエンティスト
鈴木 優衣 / 吉野 理香

illumina®

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.
© 2024 Illumina, Inc. All rights reserved.



Agenda

SECTIONS

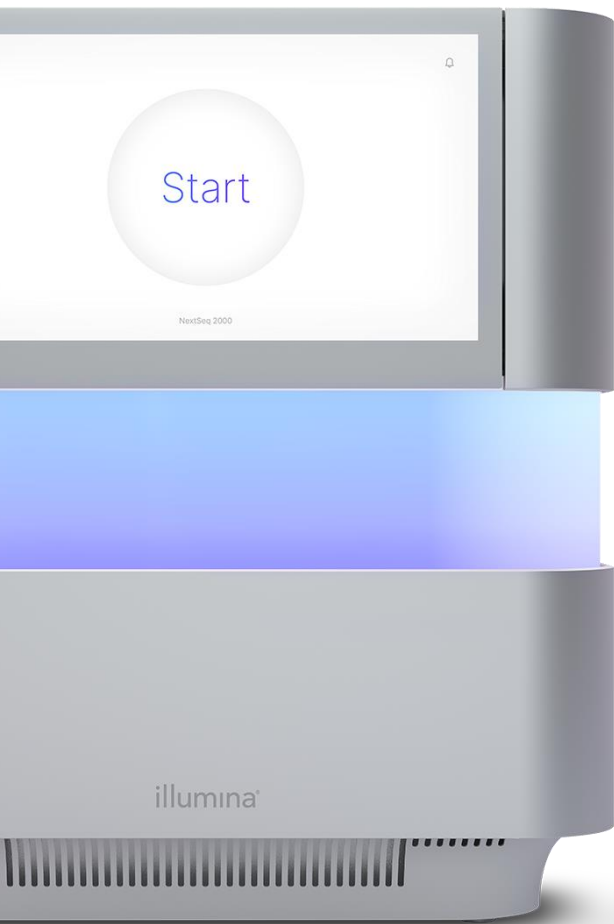
- 1 XLEAP-SBS試薬リリースによる性能向上の概要
- 2 XLEAP-SBSケミストリーについて
- 3 XLEAP-SBS試薬使用にあたっての注意点
- 4 リソース



XLEAP-SBS試薬リリース による性能向上の概要



NextSeq 1000/2000システムの特徴



幅広いアプリケーション

ベンチトップ装置で実施可能なアプリケーションの幅を広げる柔軟性と拡張性を備えた実用的なプラットフォーム



シンプルな操作

XLEAP-SBSケミストリーと内蔵DRAGEN™二次解析による効率的なワークフロー



優れたパフォーマンス

実績のあるグローバルリーダーが提供する安定したパフォーマンスと高品質なデータ



NextSeq 1000/2000システムは XLEAP-SBSケミストリーによりさらなるイノベーションを実現

NextSeq 2000 &
P2 Flow Cell (100/200/300 cycle)



2020

P1 Flow Cell



2021

P1 100 cycle & 600 cycle,
P2 600 cycle



2022

Q1 2024 release
XLEAP-SBS
New P4 Flow Cell



2024

NextSeq 1000 &
P3 Flow Cell (50/100/200/300 cycle)



Q2 2024 release
XLEAP-SBS P1/P2/P3 Flow Cells



NextSeq 1000/2000はベンチトップシーケンサーの中で最大のデータ出力を可能に



MiSeq™ System

NextSeq 500/550 Systems

NextSeq 1000/2000 Systems

NovaSeq™ X Series^b

1ラン当たりの最大出力^{a,b}

15 Gb

120 Gb

540 Gb

8 Tb

シングルリードでの1ラン当たりの最小 – 最大リード数^b

1 M – 25 M

130 M – 400 M

100 M – 1.8 B

1.6 B – 26 B

最大リード長

2 x 300 bp

2 x 150 bp

2 x 300 bp

2 x 150 bp

^a 出力の仕様は、サポートされるクラスター密度でイルミナPhiXコントロールライブラリーを用いたときの1フローセルあたりの値です。

^b シングルフローセルランに基づく仕様。NovaSeq X Plus はシングル、およびデュアルフローセルラン、NovaSeq Xはシングルフローセルランのみに対応しています。



NextSeq 1000/2000で利用可能なXLEAP-SBS試薬一覧



	P1 XLEAP-SBS on NextSeq 1000/2000			P2 XLEAP-SBS on NextSeq 1000/2000				P3 XLEAP-SBS on NextSeq 2000			P4 XLEAP-SBS on NextSeq 2000			
サイクル数 (cycles)	100	300	600	100	200	300	600	100	200	300	50	100	200	300
データ量	10 Gb	30 Gb	60 Gb	40 Gb	80 Gb	120 Gb	240 Gb	120 Gb	240 Gb	360 Gb	90 Gb	180 Gb	360 Gb	540 Gb
シングルリード でのリード数	100 M			400 M				1.2 B			1.8 B			
ラン時間	8 hrs	17 hrs	34 hrs	12 hrs	19 hrs	22 hrs	42 hrs	18 hrs	31 hrs	40 hrs	12 hrs	20 hrs	34 hrs	44 hrs
データクオリティ	≥90% Q30		≥85% Q30	≥90% Q30			≥85% Q30	≥90% Q30			≥90% Q30			

- 4タイプのフローセルと、1 x 50 bpから最大2 x 300 bpまでのリード長が実施可能な合計14種の試薬構成
- 各試薬は記載のサイクル数に36 cycles分の余剰試薬を含む

各装置で利用可能なフローセルタイプ

NextSeq 2000



P1 Flow Cell
60 Gb

Max output
(600 cycle kit)



P2 Flow Cell
240 Gb

Max output
(600 cycle kit)



P3 Flow Cell
360 Gb

Max output
(300 cycle kit)



P4 Flow Cell
540 Gb

Max output
(300 cycle kit)

NextSeq 1000




P1 Flow Cell
60 Gb

Max output
(600 cycle kit)



P2 Flow Cell
240 Gb

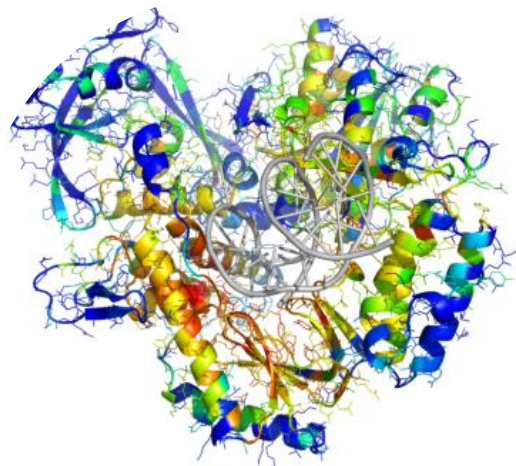
Max output
(600 cycle kit)

* オプション購入で
NextSeq 2000にアップグレード可能 

XLEAP-SBS ケミストリーについて

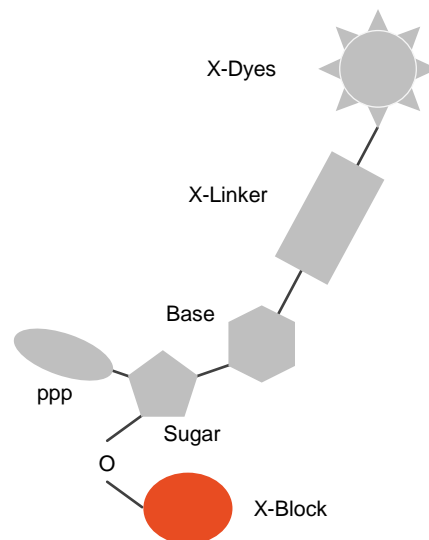


XLEAP-SBSケミストリーはNextSeq 1000/2000システムにおいて最高レベルの精度と性能を提供*



新規ポリメラーゼ

より速い伸長反応、より高いフィデリティ



X-Block, X-Linker, X-Dyes

熱耐性の最大化、溶液中での安定性が~50倍向上、ブロッカーの切断反応もより早く



より速いサイクル時間



より高い精度



コスト効率の向上



* スタンダードSBS試薬と比較して.

XLEAP-SBSケミストリーは、所要時間を約20%短縮し*、主なアプリケーションのワークフロー効率に顕著な効果をもたらす



* スタンダードSBS試薬と比較して。

レポートされる3つのクオリティスコア

Standard

RTA3

Q-Score (300 cycle kit or less)	Q-Score (600 cycle kit)	Probability of Incorrect Base	Base Call Accuracy
12	9	6 in 100	~94.00 %
26	20	3 in 1,000	~99.70 %
34	34	4 in 10,000	~99.96 %

スタンダードSBS試薬は~300 cycle kitと
600 cycle kitで付与されるQスコアが異なる



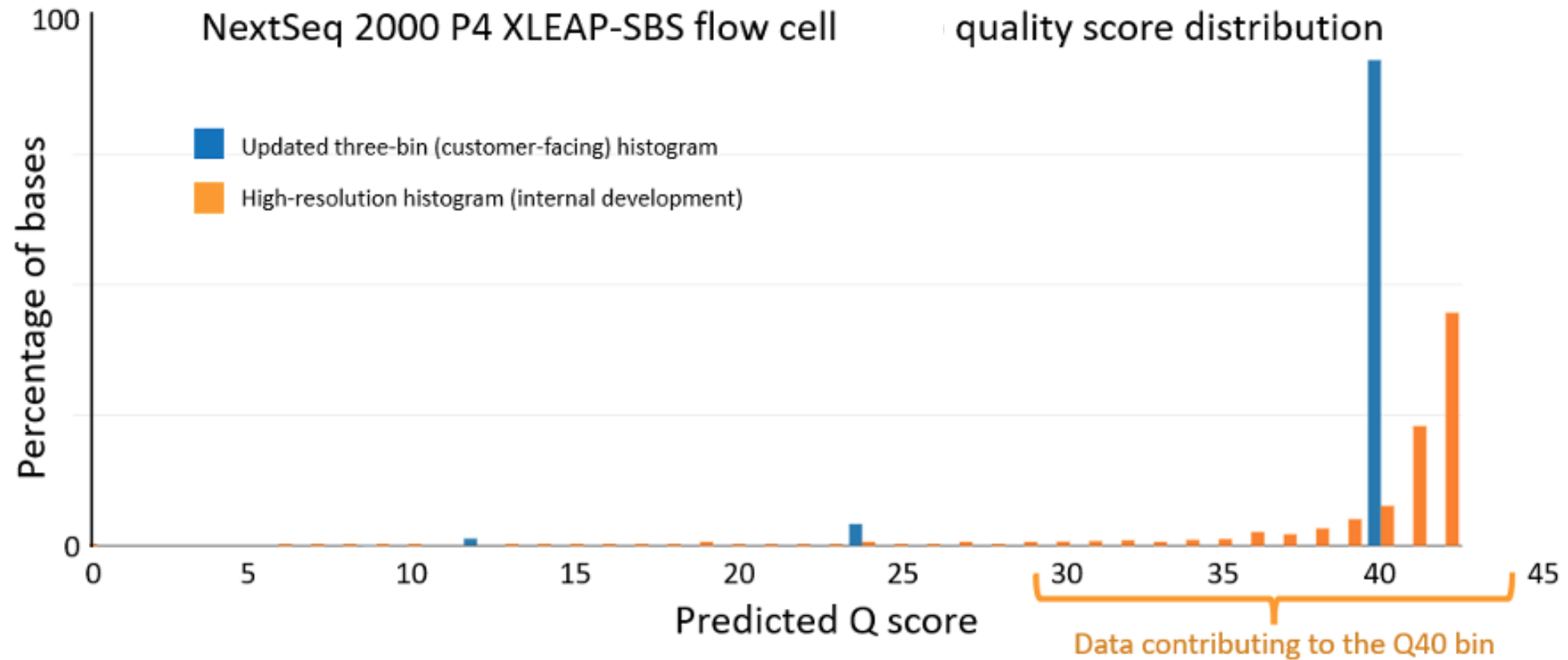
RTA4

Q-Score	Probability of Incorrect Base	Base Call Accuracy
12	6 in 100	~94.00 %
24	4 in 1,000	~99.60 %
40	1 in 10,000	~99.99 %

XLEAP-SBS試薬は、サイクル数に関わらず、
付与されるQスコアは同一



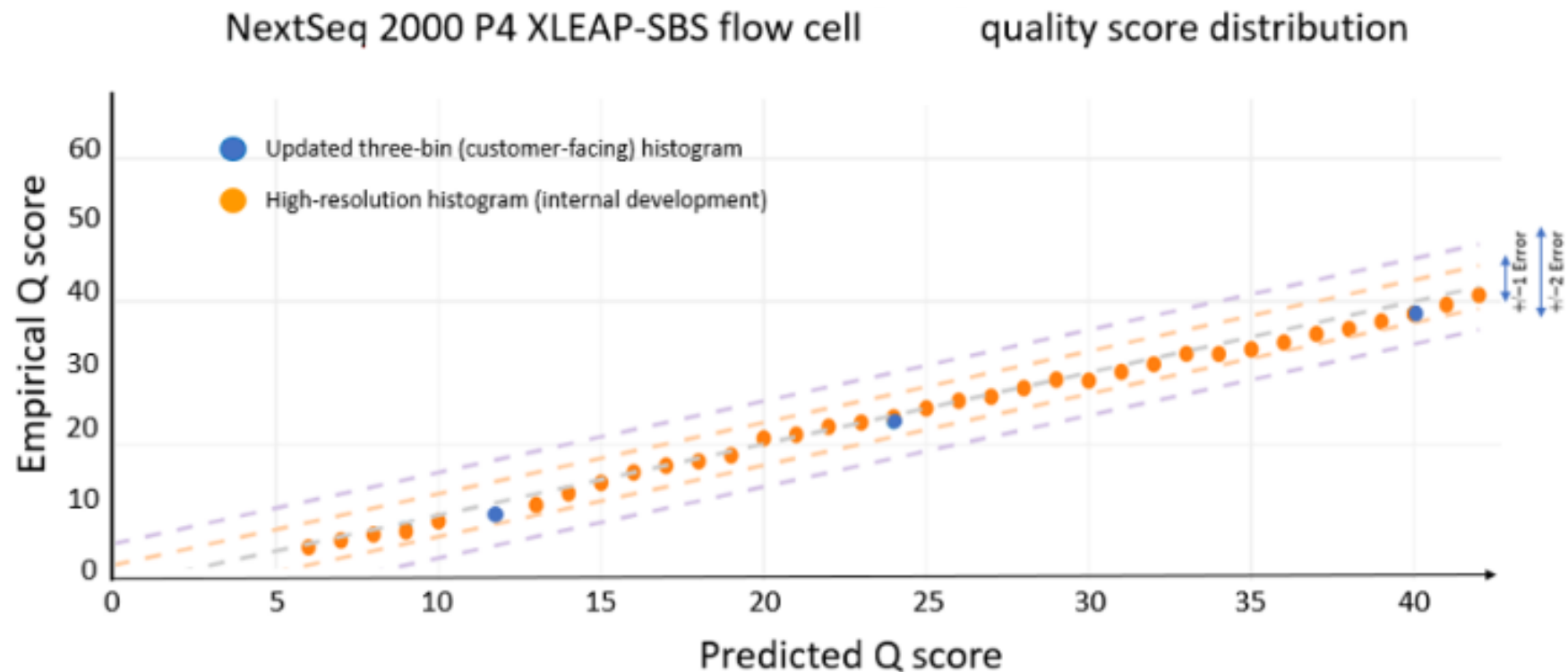
XLEAP-SBSケミストリーでは、Q40ビンの塩基がNextSeq 2000ランの出力塩基の90%以上を占める



<https://www.illumina.com/science/genomics-research/articles/data-quality-q-scores.html>



XLEAP-SBS試薬を使用した NextSeq 2000ランのクオリティスコアの分布



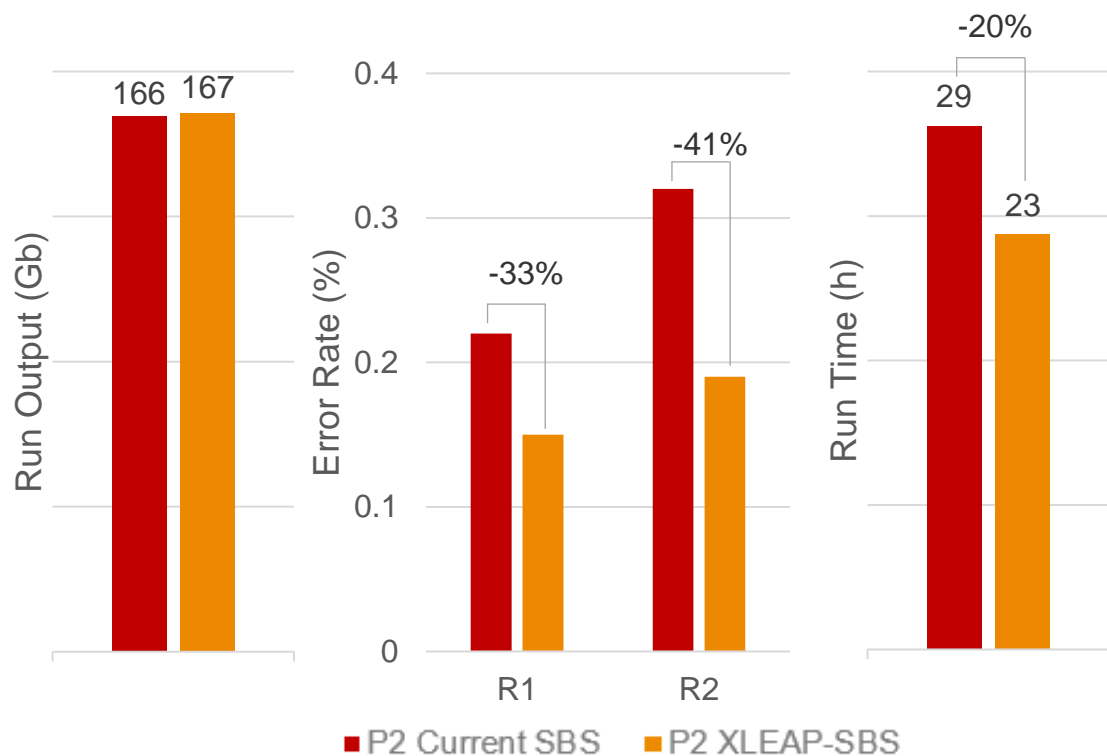
Predicted Q-Score
12
24
40

<https://www.illumina.com/science/genomics-research/articles/data-quality-q-scores.html>

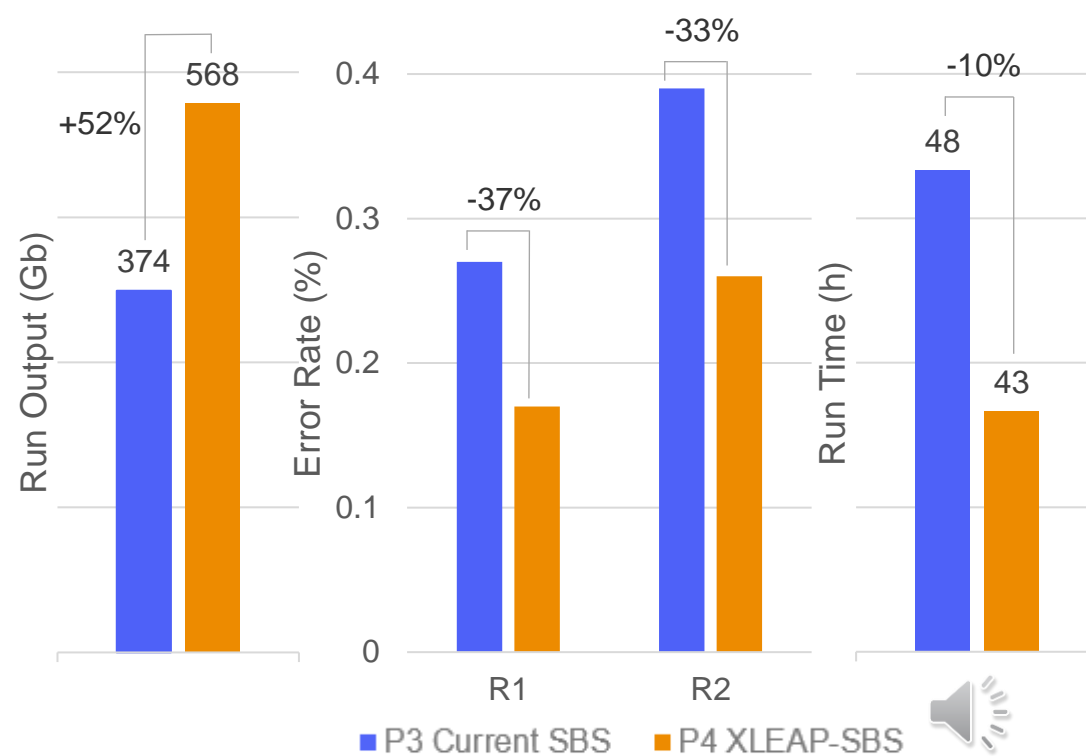


XLEAP-SBSケミストリーは、収量、クオリティ、ラン時間を向上

P2 スタンダードSBS vs P2 XLEAP-SBS
(2 x 150 bp、PhiXコントロールライブラリ)

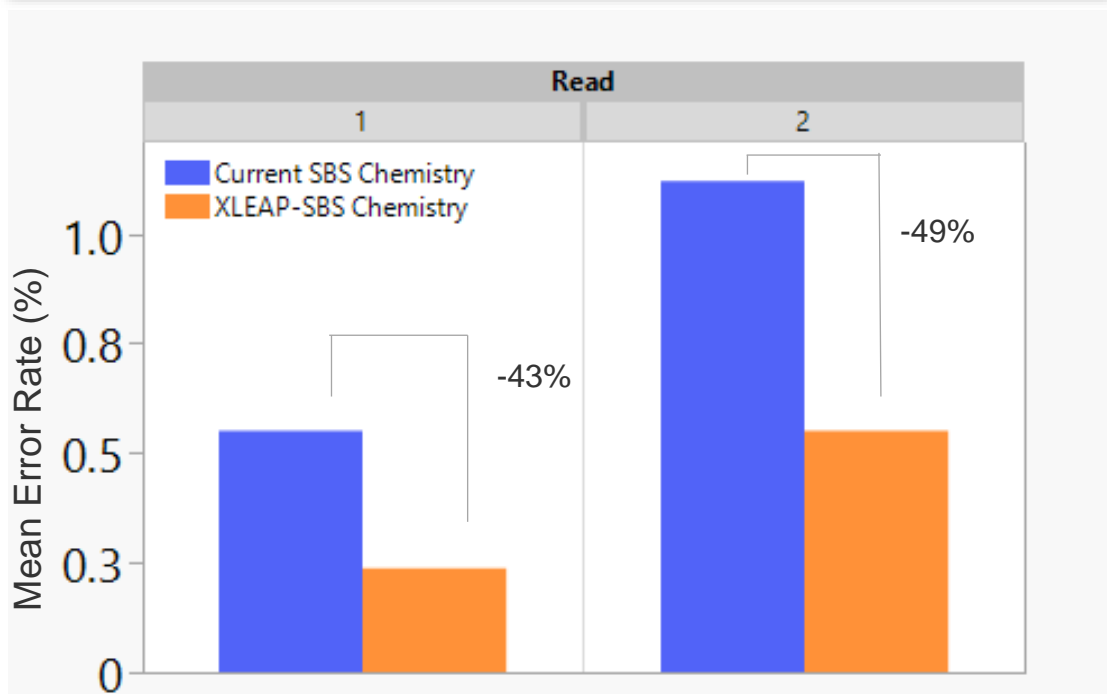


P3 スタンダードSBS vs P4 XLEAP-SBS
(2 x 150 bp、TruSeq™ PCR-Freeライブラリ)



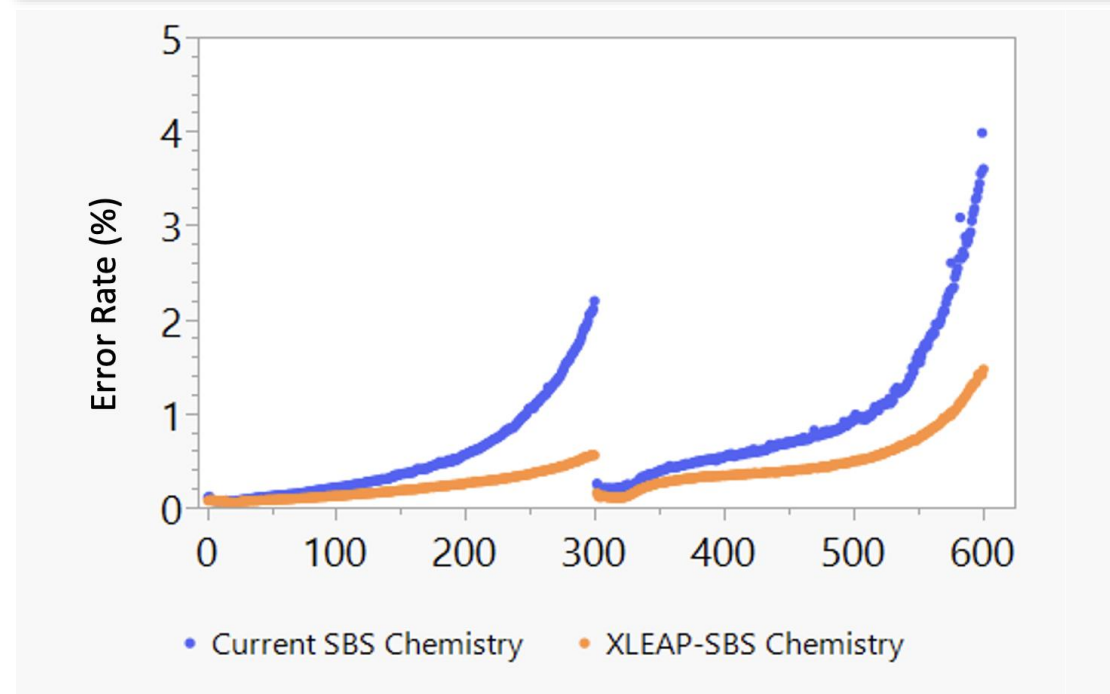
XLEAP-SBS 600 cycleキットのデータクオリティ向上

XLEAP-SBSのエラー率は、スタンダードSBSケミストリーのエラー率よりも大幅に低い



XLEAP-SBS ケミストリー試薬は収量も向上し、P2フローセルで400 M reads取得可能 (スタンダード試薬では300 M reads)

テストでは、特にリード長の終盤で高品質のデータが実証された

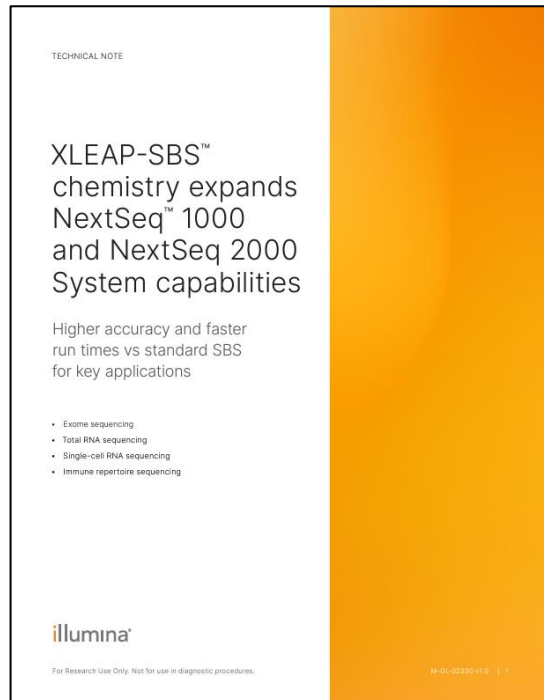


より質の高いベースコールにより、de novoアセンブリ性能向上が見込まれる

XLEAP-SBS試薬に関連したテクニカルノート

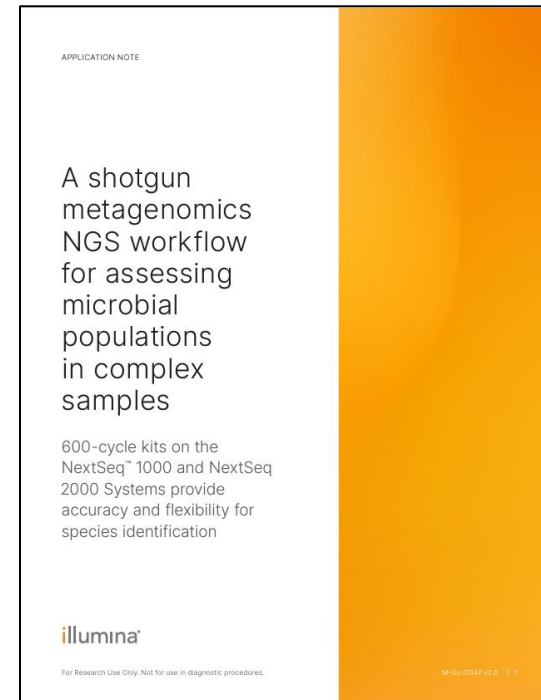
XLEAP-SBS chemistry expands NextSeq 1000 and NextSeq 2000 System capabilities

キーアプリケーションでのスタンダードSBS試薬とXLEAP-SBS試薬のデータ比較



A shotgun metagenomics NGS workflow for assessing microbial populations in complex samples

2 x 300 cycleアプリケーションでの、MiSeq、スタンダードSBS試薬、XLEAP-SBS試薬のデータ比較



XLEAP-SBS試薬使用 にあたっての注意点



ソフトウェア必要条件とアップデートに伴う注意事項

- XLEAP-SBS試薬の使用には、コントロールソフトウェアのバージョンがv1.7 以上であることが必要
 - アップデートはユーザ自身で実施可能

NextSeq 1000/2000 Control Software Suite v1.7.1:

<https://support.illumina.com/downloads/nextseq-1000-2000-control-software-suite-1-7-01.html>

- v1.5.0からのアップデートと、v1.7.0からのアップデートの2種類のインストーラーがある点に注意
- ソフトウェアをv1.7.x にアップデートすると、ダウングレードはできない
- ソフトウェアアップデート後も、スタンダードSBS試薬は使用可能
 - ロードされた試薬の情報を元に、スタンダードSBS試薬ではRTA3、XLEAP-SBS試薬ではRTA4が選択され、動作する
 - XLEAP-SBSの構成部品とスタンダードSBS試薬の構成部品に相互互換性はないため、フローセルとカートリッジはそれぞれの試薬の組み合わせで利用する必要がある



コントロールソフトウェア v1.7と適合するDRAGENのバージョンとリファレンスゲノムについて (1/2)

- コントロールソフトウェアv1.7.x は、DRAGEN v4.2.7以上とのみ適合性があるため、v1.7.x へのアップデートに合わせて、DRAGENのアップデートも同時に行う必要がある
- DRAGENの各ワークフローのインストーラーは、NextSeq 1000/2000のソフトウェアダウンロードサイトで入手可能

https://support.illumina.com/sequencing/sequencing_instruments/nextseq-1000-2000/downloads.html

DRAGEN BCL Convert Workflow Installer

Installation and release note files for DRAGEN BCL Convert (Generate FastQ) Workflow.

[^ View Options](#)

[DRAGEN Workflow Installer - BCL Convert v4.2.7 \(tar.gz format\)](#)

Mar 6, 2024

[DRAGEN BCL Convert Workflow v4.2.7 Customer Release Notes \(200052659 v00\)](#)

< 1 MB

Mar 6, 2024



コントロールソフトウェア v1.7と適合するDRAGENのバージョンとリファレンスゲノムについて (2/2)

- DRAGEN v4.2.7は、v9 リファレンスが必要なため、リファレンスゲノムもアップデートする必要がある
 - 主要なリファレンスゲノムも、NextSeq 1000/2000のソフトウェアダウンロードサイトで入手可能
https://support.illumina.com/sequencing/sequencing_instruments/nextseq-1000-2000/downloads.html
 - ソフトウェアアップデート後に手動でインストールを行う

DRAGEN Reference Genome Files for NextSeq 1000/2000 Control Software v1.7

Reference genomes and supporting JSON files for NextSeq 1000/2000 Control Software v1.7.

[^ View Options](#)

Genome and Info Files (JSON)	< 1 MB	Mar 11, 2024
A_Thaliana-rna-9-r3.0-2.tar.gz		Mar 6, 2024
Bacillus_cereus_ATCC_10987-rna-9-r3.0-2.tar.gz		Mar 6, 2024
chm13_v2-cnv.graph.hla.rna-9-r3.0-2.tar.gz		Mar 6, 2024

- カスタムで作成したリファレンスゲノムはBSSHのReference Builder (Instruments) v2.0.0 で作り直す必要がある



Reference Builder (Instruments)
Illumina, Inc.
[Bookmark this app](#) [? Help](#)

FOR RESEARCH USE ONLY

This version of the Reference Builder (Instruments) App includes the following features:

Pricing
Compute cost Free

Version
2.0.0

[Launch Application](#)

Additional Information
[Release Notes](#)
Version 2.0.0

New Features

- Upgraded to DRAGEN 4.2.7.
- Generates v9 references.



アップデート作業に関する注意事項 (1/2)

- アップデート作業はリリースノートの指示に厳密に従う
 - 作業開始時にAdminログインが必要
- V1.7.x へのソフトウェアのアップデート完了後に、DRAGENアプリv4.2.7のアップデートを実施する
 - 古いバージョンのDRAGENアプリのアンインストールの際は、DRAGEN BCL Convertを最後に削除する
 - 新しいバージョンのDRAGENアプリのインストールの際は、DRAGEN BCL Convertを最初に入れる
- アライメントが必要なDRAGENv4.2.7のワークフロー利用時は、合わせてリファレンスゲノム v9をインポートする
 - 主要な生物種については、NextSeq 1000/2000のサポートサイトに掲載のv1.7対応のリファレンスゲノムを使用する
 - ヒトやマウスなどのリファレンスゲノムのダウンロードおよびインポートに時間がかかる
 - 装置の容量確保のため、新しいリファレンスゲノムインポートの前に、古いリファレンスゲノムの削除を推奨



アップデート作業に関する注意事項 (2/2)

- アップデート完了後、デスクトップなどに保存したインストーラーは、ごみ箱に移動した後、必ずごみ箱を空にする
 - ヒトやマウスなどのリファレンスゲノムは特に容量が大きいので注意する。
ごみ箱を空にするまで、ストレージは解放されない
 - User権限でログインするとAdmin側のごみ箱内のファイル操作はできないので、Adminログイン状態でごみ箱を空にする必要がある
 - デスクトップを含め、各ディレクトリの容量が不十分な場合、プレランチェック時にエラーが出る
- ソフトウェアのアップデート、DRAGENのインストール、リファレンスゲノムのインポートの全作業は数時間かかる。時間に余裕のある時に実施する

不明な点があれば、随時、テクニカルサポートにお問い合わせ下さい

Tel: 0800-111-5011 9AM-5PM, E-mail: techsupport@illumina.com



XLEAP-SBS試薬のカートリッジのサイズ

- スタンダードSBS試薬に比べ、試薬カートリッジは、4センチ分縦に長くなった
- XLEAP-SBS試薬は、すべてのフローセルタイプで、スタンダードSBS試薬の600 cycleと同じサイズに
 - 冷凍庫の保管スペースが十分であることを確認する
 - 大きくなったXLEAP-SBS試薬の利用に際し、ハードウェア側の更新や調整は不要



29.2 cm × 17.8 cm × 12.7 cm

300 cycle以下の
スタンダードSBSカートリッジ



33.2 cm × 17.8 cm × 12.7 cm

すべてのXLEAP-SBSカートリッジ
600 cycle スタンダードSBSカートリッジ



P4 300 Cycle
XLEAP Kit





試薬カートリッジの解凍方法

試薬解凍時間がスタンダードSBS試薬に比べて長くなった点に注意

XLEAP-SBS試薬の解凍時間のオプション

方法	解凍完了までの最短時間	放置可能な期限	解凍完了後のカートリッジの保管*
温度調整ウォーターバス (25°C)	8 hours	10 hours	2-8°Cに72 hours
冷蔵庫	室温に 6 hours + 2-8°Cに16 hours	2-8°Cに72 hours	2-8°Cに56 hours
室温	12 hours	16 hours	2-8°Cに72 hours

* 最短の解凍時間後

Best Practices

- 常にfoilバッグは未開封の状態で、ラベルを上にした状態で解凍する
- 室温でXLEAP-SBS試薬を解凍する際は、下面も空気に触れるようにする
- 解凍後、なるべく早くシーケンスに用いる
- 再凍結しない



ライブラリーの希釈と推奨のロード濃度



各種ライブラリーの推奨ロード濃度は、フローセルタイプ(P1/P2/P3/P4)によって異なる

Product Documentationに推奨ロード濃度があるライブラリー?

Yes
 使用するフローセルタイプに応じた濃度を参照する

[Product Documentation]: [Denature and Dilute Libraries for the NextSeq 1000/2000 Sequencing Systems \(Onboard\)](#)

No

スタンダードSBS試薬で確立した至適濃度情報あり?

Yes (P1/P2)
 スタンダードSBS試薬で確立した至適濃度を参照する

Yes (P3/P4)
 スタンダードSBS試薬で確立した至適濃度の3/4の濃度を初回ラン濃度として参照する (濃度を25%低くする)

No

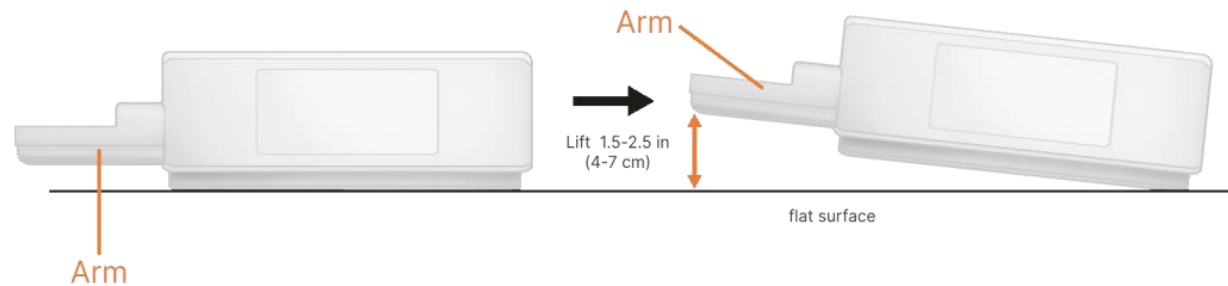
上記、情報があるライブラリー中で近いタイプのライブラリーの情報を参照して、条件検討スタート

Library Type	XLEAP-SBS Final Loading Concentration (pM)			
	XLEAP-SBS P1	XLEAP-SBS P2	XLEAP-SBS P3	XLEAP-SBS P4
Illumina DNA Prep with Enrichment	1000	1000	1000	1000
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750	750	750	750
TruSeq DNA Nano 550 (600-cycle kit only)	1500	1500	Not applicable	Not applicable
100% PhiX (300-cycle kits and below)	650	650	450	450
100% PhiX (600-cycle kit only)	450	450	Not applicable	Not applicable



ライブラリーロード前の試薬カートリッジの準備に関する注意事項

試薬カートリッジの準備手順:



持ち上げて落とす
操作を5回繰り返
すことが重要！

持ち上げて落とす操作により、泡を軽減でき、カートリッジ構成成品を安定化できる

[参考動画](#)

XLEAP-SBS 試薬の標準シーケンスプライマーについて










- XLEAP-SBS試薬カートリッジ内シーケンスプライマーは、Illumina DNA PCR-free サンプル調製キットで作成されたライブラリーに適合するもの (VP21、VP14)に変更
- PhiXあるいはイルミナ純正のライブラリーと共に、カスタムシーケンスプライマーが必要なライブラリーをプールしてシーケンスする場合、**XLEAP-SBS用のカスタムプライマーキットが必要**
 - “XLEAP-SBS”とついていないNextSeq 1000/2000 Primer kitは、スタンダードSBS試薬用です。

オーダー#	品名	内容	本数
20112856	NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read and Index Primer Kit	VP21 (Read 1/2 Seq Primer mix)	1
		VP14 (Index 1/2 Seq Primer mix)	1
20112859	NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Read Primer Kit	VP21 (Read 1/2 Seq Primer mix)	10
20112858	NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBS Index Primer Kit	VP14 (Index 1/2 Seq Primer mix)	10

塩基に対する蛍光色素の変更について

Standard








RTA3

2-Channel Chemistry				
		G		
	A		T	C
Image 1				
Image 2				

Blue/Greenの2色法には変更なし、
Base Callの割り当てが変更
（“A”と“C”が逆に割り当て）



RTA4

2-Channel Chemistry				
		G		
	C		T	A
Image 1				
Image 2				

- 蛍光シグナル-塩基の割り当て変更により、蛍光バランスのとれるIndexの組み合わせが変化。
Low-plex時のインデックス選択に注意
[Knowledge]: [Index color balancing for XLEAP SBS reagents on the NextSeq 1000/2000 and NovaSeq X/X Plus](#)
- “G”（蛍光シグナルなし）のみのサイクルは避けるべき、は変更なし
- [Adapter Pooling Guide](#)に追加された、[XLEAP-SBS Chemistry]項目を参照（すべてのサイクルにおいて、Blue/Greenの両方にポジティブシグナルが存在することが理想）

リソース

4



製品のドキュメント

- [NextSeq 1000/2000シーケンスシステム サポートリソース](#)

製品 ラーニング 企業情報 サポート

サポートリソース 概要 ドキュメント 互換性のある製品 試薬キット 製品ファイル ソフトウェアダウンロード よくある質問 (FAQ) トレーニング [サポートホーム](#)

NextSeq 1000/2000シーケンスシステム

サポートリソース

サポートセンター
NextSeq 1000/2000シーケンスシステムサポート

NextSeq 1000/2000 XLEAP-SBSキットは、サードパーティのインデックスセットと互換性がありますが、イルミナのインデックスセットを選択する場合は、イルミナのDNA/RNA UDインデックスセットA-D (20091654、20091656、20091658) を使用してください20091660。

<h3>ドキュメント</h3> <p>NextSeq 1000/2000製品資料</p> <p>セキュリティとネットワーク</p> <p>変性および希釈プロトコルジェネレーター</p> <p>すべて表示</p>	<h3>ソフトウェアダウンロード</h3> <p>NextSeq 1000/2000 Control Software Suite v1.7.1</p> <p>NextSeq 1000/2000 Control Software Suite v1.5.0</p> <p>すべて表示</p>	<h3>製品情報</h3> <p>技術情報</p> <p>仕様</p> <p>プロアクティブ機器モニタリング</p> <p>サービスと保証</p> <p>法規制と品質情報</p>
---	--	---

- [NextSeq 1000/2000 Product Documentation](#)
- [関連資料](#)
- [ソフトウェアダウンロード](#)
- [仕様](#)



製品関連記事

- [Illumina Knowledge](#)

The screenshot shows the Illumina Knowledge website. At the top left is the Illumina logo. To the right of the logo are the links "Illumina.com" and "Illumina Support". Below the logo is a navigation menu with the following items: "Illumina Knowledge", "What's New", "Announcements", "INSTRUMENTATION", "General", "iSeq 100", "MiniSeq", "MiSeq", "NextSeq 500/550", "NextSeq 1000/2000" (highlighted with a yellow box), "cBot", "HiSeq 1000/2500", "HiSeq X", and "NovaSeq X/X Plus". The "NextSeq 1000/2000" dropdown menu is open, showing "FAQ", "Reference Material", and "Troubleshooting". The main content area is titled "Illumina Knowledge" and contains a large orange banner. Below the banner is a paragraph: "Illumina Knowledge is a repository of 1310 FAQs, troubleshooting articles and reference material for Illumina products and workflows, covering all Illumina Microarrays and every stage of Sequencing. Use the navigation bar on the left of the page to find areas of interest and content types, use the search function at the top right to query keywords." Below this is a section titled "What's New" with four bullet points: "Instructions to back up DRAGEN license files when upgrading the operating system on a DRAGEN server (March 25, 2024)", "Proper care of IAPS with ILASS robot fluidics (March 25, 2024)", "Troubleshooting Illumina Service Connector not connected for Window computer (March 25, 2024)", and "What is the required iScan Control Software version and scan setting for Infinium EX BeadChips? (March 25, 2024)".

NextSeq 1000/2000に関連したknowledgeの一覧

- [Common Questions Related to Sequencing Analysis Viewer \(SAV\) software and the NextSeq 1000/2000](#)
- [How to create new user accounts on the NextSeq 1000/2000](#)
- [How to obtain a NextSeq 1000/2000 v2 sample sheet?](#)
- [How To Power Cycle NextSeq 1000/2000 Video](#)
- [Understanding loading and percent loading concentration on the NextSeq 1000/2000](#)
- [Troubleshooting Failed to execute connectivity check input parameters on the NextSeq 1000/2000](#)
- [Troubleshooting 'mount' Errors when Networking NextSeq 1000/2000 Instruments](#)



オンラインリソース

Illumina Knowledgeより

[Library Preparation]

- [What is nucleotide diversity and why is it important?](#)

[Run Planning]

- [Why sequencing 26 or more cycles in Read 1 is recommended](#)
- [How many cycles of SBS chemistry are in my kit?](#)
- [Maximum read length for Illumina sequencing platforms](#)
- [How to thaw and store sequencing reagents for optimal performance](#)
- [Run time estimates for each sequencing step on the Illumina sequencing platforms](#)
- [Approximate sizes of sequencing run output folders](#)

[Run Quality]

- [Does my sequencing run look good?](#)

オンライントレーニング

[NextSeq 1000/2000 How to Start a Run](#)

- [BaseSpace BCL Convert: How to Requeue Analysis for a NextSeq 1000/2000 run](#)

録画されたウェビナー

- [NextSeq 1000/2000: Introduction](#)
- [NextSeq 1000/2000: Introduction to Analysis with DRAGEN](#)
- [Illumina sequencing innovations powered by XLEAP-SBS chemistry](#)
- [Advancing epigenetic breakthroughs with the Illumina NextSeq 1000/2000](#)

その他

- [Index Adapters Pooling Guide](#)
- [Index Sequencing Overview Guide](#)



Thank You

イルミナ株式会社 サービスサポート部

| techsupport@illumina.com

