

別紙 1

FastTrack ジェノタイピング(遺伝子型判定)サービス サービス内容

1. **サンプル:**お客様は、このサービス内容の第 0 項に従い、完全で正確なサンプル目録をイルミナに提供することに同意されたものとします。

イルミナが、イルミナの判断で、このサービス内容の項に定められた基準を満たさないサンプルを発見した場合には、その旨お客様に通知します。その場合には、お客様は、(a) 当該サンプルを交換するか、(b) そのまま当該サンプルを進めるかを選択することができます。(a)及び(b)のいずれを選択された場合でも、たとえ当該サンプルについてきちんとした結果が得られなかったとしても、当該サンプルについて行った本サービスの代金は全額お支払いいただきます。

2. **解析結果:**イルミナはお客様に対して、次の内容の解析結果を提出します： 各サンプルについて行ったアッセイの SNP ジェノタイピングコールとスコア

3. **納期:**解析結果の納期は、プロジェクト開始時に、サンプルの数とその時点のサービスラボにおける順番に応じて決定します。

納品時期

- 3.1.1 解析結果の納品時期は、最短で以下のとおりとなります。
- 3.1.2 GoldenGate® アッセイによるカスタムジェノタイピング解析については、ご注文の受付、ローカスの選択又はサンプルの受領のうち、最後に行われたものから 60 日以内。
- 3.1.3 標準 GoldenGate® パネルについては、ご注文の受付とサンプルの受領のうち、後に行われたものから 45 日以内。
- 3.1.4 iSelect™ Infinium® カスタムジェノタイピング解析については、ご注文の受付、ローカスの選択又はサンプルの受領のうち、最後に行われたものから 90 日以内。解析を行うサンプルの数が 2000 を超える場合には、解析結果の納期は、プロジェクト開始時に、その時点のサービスラボにおける順番の状態に応じて決定します。
- 3.1.5 Infinium アッセイによる標準ジェノタイピング解析については、ご注文の受付とサンプルの受領のうち、後に行われたものから 60 日以内。解析を行うサンプルの数が 1,000 を超える場合には、解析結果の納期は、プロジェクト開始時に、その時点のサービスラボにおける順番の状態に応じて決定します。

4. **SNP 選択プロセス:**ジェノタイピングデータを提供するためにイルミナがカスタムアッセイを作成する場合には、ご注文の受付から 14 日以内に、お客様からイルミナに対して、本サービス内容の第 5 項に定める SNP 選択ガイドラインに従い、一連の SNP 遺伝子座(以下「ローカス」といいます。)を指定することにお客様は同意されたものとします。最終ローカスについては、イルミナとお客様との間で、相互に合意するものとします。イルミナは、お客様から提供され、イルミナが承諾した各 SNP 遺伝子座について、機能的な SNP アッセイを作成するよう努力します。お客様がイルミナに対してローカスを提供する際に、一般に入手できないローカスが含まれている場合は、それを特定してください。

5. **サンプルの要件:**イルミナの経験上、サンプルが以下の要件を満たす場合に、良好なジェノタイピングデータを得やすくなります。

5.1 サンプル目録

- 5.1.1 高品質のデータを確実に得るために、必ずサンプルの性質を記載した目録を提出してください。イルミナのサービスラボでは、標準化された手順で作業が行われますので、なるべく早い段階で用意されたサンプルのバリエーションを把握することが重要となります。各サンプルについて、性別、親に関する情報、リプリークサンプルに関する情報を提供してください。サンプル目録には、以下の様式を使用してください。

目録内の項目:

DNA プレートバーコード(例:GoldenGate には GS0000777-DNA、Infinium には WG0000888-DNA) サンプルのウェルポジション(例:A05) お客様のサンプル ID(例:GS0000777-DNAA05_Name) サンプルの生物種(例:ホモサピエンス) 各サンプルの性別(F: 女性、M: 男性、U: 不明) 備考 ウェル内の量(例:40 μ L)	PicoGreen で計測した DNA 濃度(50ng/ μ L 以上) 組織採取源(例:細胞株) 抽出方法(例:フェノール/クロロフォルム) WGA 法(該当する場合のみ。例:REPLI-g) WGA で使用した DNA 質量(該当する場合のみ。例:50ng) 母親(例:GS000777-DNAA06_Name1) 父親(例:GS000777-DNAA07_Name2) リプリケート(例:GS0000777-DNAA08_Name3)
--	---

イルミナにサンプルを送付する前に、イルミナの担当者にサンプル目録のファイルを送って確認を受けてください。

5.1.2 サンプルを採取した個人の匿名性を保持するため、イルミナは、バーコード化されたマイクロタイタープレートを支給し、プレート番号とウェルポジションでサンプルを特定します。これにより、当社の自動化されたプロセスと LIMS データベースにシームレスなインターフェイスでつながります。サンプルは、支給されたプレートに入れ、シリコンキャップで蓋をし、冷凍して、ドライアイスで保冷して発送してください。相互コンタミネーションや劣化の危険を避けるため、DNA を完全に冷凍された状態で輸送することが非常に重要です。

5.2 DNA のサンプルの基準

- 5.2.1 DNAは、二重鎖の、PicoGreen蛍光等のDNA特有の方法で定量化してください。
- 5.2.2 DNAはすべて濃度を50 ng/ μ L以上としてください。必要なDNAの総量は、解析するSNPの数によって異なり、プロジェクトごとに決定されます。基本的なDNAの要件は以下の表にまとめられたとおりです。
- 5.2.3 DNAは10mM Tris/1mM EDTAで希釈してください。
- 5.2.4 DNA抽出プロトコルの簡単な説明を記載してください。
- 5.2.5 予備テストとして、数件の代表サンプルの提出をお願いしています。それらのテストDNAを使って、イルミナのジェノタイピングプラットフォームでの性能品質を判断します。これらの代表サンプルはプロジェクトの内容には含まれず、検査終了後に廃棄されます。

5.3 DNA の要件

アッセイ	プロジェクトタイプ	サンプル当たりの最低 μ g	サンプル当たりの μ g
GoldenGate & Infinium	テストサンプル	1.75	35
GoldenGate	カスタム	上限 SNP 数は 3,072	35
Infinium	標準及び iSelect		35

5.4 マイクロタイタープレートの形状

- 5.4.1 イルミナは、バーコード化されたMIDIプレートを対応する蓋とともに支給します。
- 5.4.2 ウェルA01とA12は、イルミナのDNA管理のために空にしておいてください。
- 5.4.3 蓋は完全にしっかりと閉めてください。Microseal Film (カタログ番号MSR-0001) やCorning Storage Mat Applicator (カタログ番号3081) にはMJ Research Roller 等、器具の使用をお勧めします。。
- 5.4.4 各マイクロタイタープレートのDNAポジションのマップはおお客様の責任で管理してください。ジェノタイピングデータは、各DNAのバーコードとウェルポジションで表示されます。

- 5.4.5 DNAは、梱包して出荷する前に完全に冷凍し、冷凍された状態が続くようにしてください。プレートは、サンプルが凍結された状態を保つように、十分なドライアイスで冷やして発送してください。
- 5.4.6 DNAは翌日急配便で発送してください。

5.5 カスタムジェノタイピングプロジェクトのためのイルミナの SNP 選択と提出要件

5.5.1 イルミナ SNP フォーマットガイドライン

デザインが可能かどうかの情報を把握するため、SNP選択のための質問を提出することができます。さらに、ヒトの研究の場合には、現在サポートされているdbSNPバージョンからのデータは返却されます。サポートされている入力ファイルタイプは以下のとおりです。

- 5.5.1.1 SNPリスト:お客様は、RS番号を使ってヒトの研究のためのSNPを提出することができます。
- 5.5.1.2 遺伝子リスト:遺伝子リスト(及び指定された遺伝子からの上流及び下流の距離)をヒトの研究のための遺伝子領域内のSNPリストを把握するための入力項目として使用することができます。
- 5.5.1.3 マーカーリスト:ヒトの研究については、「開始(スタート)」及び「終了(ストップ)」領域を表すためのマーカーのリストをSNPの質問に使用することができます。遺伝子リストについては、(塩基対の)上流及び下流の距離も入力フォーマットで指定することができます。
- 5.5.1.4 配列リスト:ヒトの研究及びサポートされている生物種(例:マウス、犬、鳥、...)のリストについては、配列リスト、染色体の番号と座位を入力することができます。サポートされていない生物種のアッセイも、この提出書式を使用して設計することができます。配列リストには、IUPACコードを使用して、隣接する多型とともに目標とするSNPを括弧で記入して(例: [A/G])、目標とするSNPのいずれかの側の50bp以上の配列と共に記載してください。

5.5.2 SNP 選択追加サポート

イルミナの Fast-Track ジェノタイピングサービスでは、イルミナのアッセイデザインツール(ADT)によりデザインバリエーションとマイナーアレル頻度のデータを提供するほか、SNP 選択における以下の追加サポートを提供することもできます。

- 5.5.2.1 タグ選択:当社は、タグ選択を完成させるため、国際ハップマップ計画(International HapMap Project)のフェーズ1とフェーズ2のジェノタイピングデータを使用します。ユーザーの入力項目としては、目標の全体領域、ビン(bin)当たりのSNP(閾値 r^2 とする)、マイナーアレル最低頻度及び任意の母集団(CEU、CHB、JPT、YRI)があります。
- 5.5.2.2 間隔の最適化:イルミナの自動間隔選択ツールにより、リストの中から、マイナーアレル頻度(及び希望する場合には必須SNP)に応じた最適な間隔のSNPの標的化が容易になります。
- 5.5.2.3 アノテーション:イルミナは、アノテーション(ヒトの研究におけるRSリスト上のコンティグ、refseq遺伝子及びもともと近隣のイントロン/エクソン境界までの距離)も提供することができます。

5.5.3 SNP の分析と選択のプロセス

SNP 選択プロセスの一環として、SNP 配列をアッセイの適合のために分析します。アッセイ設計のために考慮する基準の例としては、以下のものがあります。

- 5.5.3.1 当該SNP配列がゲノム内の重複配列内でないこと。
- 5.5.3.2 当該SNP配列に反復要素がないこと。
- 5.5.3.3 AT及びGCコンテンツに問題が無いこと。
- 5.5.3.4 Tmに問題がないこと。

5.5.4 iSelect カスタム Infinium SNP 選択に関する注記

すべての SNP クラスには当社の Infinium ケミストリーが使われています。以下の SNP には一つ以上のビーズタイプが必要です。

- 5.5.4.1 A/C、A/G、T/C 及び T/G。ただし、A/T と C/G SNP には2つのビーズタイプが必要です。分析の都合上、SNP は3つの標準化ビンに分類されます。
- 5.5.4.2 ビンA:A/T SNP
- 5.5.4.3 ビンB:C/G SNP
- 5.5.4.4 ビンC:その他のSNP

- 5.5.4.5 各ピンは空であるか、190 以上の SNP が含まれるものとします。1ピン当たりの SNP の最低数を満たすため、ピン C の SNP をピン A 又はピン B に移し、代わりに当該 SNP には追加のビーズタイプを使用することができます。

分析後に、お客様には、イルミナのアッセイ用のマーカーとデザインスコアのファイルを、マイナーアリル頻度及び追加的なサポート情報(例:注記又はタグ選択)が要請されていた場合には当該情報と共に、準備ができ次第お渡しします。お客様は、選択された SNP を精査し、承認し、修正することができます。お客様による SNP の承認後に、オリゴ製造が開始します。最終データセット上の SNP の数は、アッセイ変換率により異なります。失敗するアッセイもあることが予想されており、それらの SNP についてはデータは提出されません。

カスタム Infinium プロジェクトでは、最低製造遺伝子座変換率は 80%です。アッセイ成功率は設計段階で選択されたマーカーにより異なります。選択されたマーカーの過半数が過去に Infinium プラットフォームで確認されたことがある場合には(デザインスコア 1.1)、最終遺伝子座変換率は非常に高くなります。デザインスコアが低いマーカーが選択された場合には、逆に、遺伝子座変換率は低くなります。

FastTrack シーケンス、全ゲノムシーケンス (以下「WGS」) サービス内容

1. サンプルの要件

お客様は、このサービス内容の第3項に従い、完全に正確なサンプル説明をイルミナに提供することに同意されたものとします。

- 1.1. DNAは、ヒトの組織サンプルから抽出された、純粋で、手を加えられておらず、分子量の高い、他の個人又は他の生物種からの核酸のコンタミネーションが無いものとしてください。この点についての詳細は、担当の営業部員にお尋ねください。
- 1.2. DNAは、二重鎖の、PicoGreen等のDNA特有の方法で定量化してください。当社のサービスにおいて解析した500,000を超えるサンプルの結果から、OD定量化は不適切であるとみなします。
- 1.3. DNAの濃度の最低数値は以下のとおりです。
 - 1.3.1.1. WGS - 30ng/ul
 - 1.3.1.2. フェージング解析 - 30ng/ul
- 1.4. DNAの量の最低数値は以下のとおりです。
 - 1.4.1.1. WGS - 100ul
 - 1.4.1.2. フェージング - 135ul (これは、WGS及びフェージング解析のための量を含んだ量です。)
- 1.5. バッファーは10mM Tris/1mM EDTA.としてください。
- 1.6. OD 260/280は1.8と2.0の間としてください。
- 1.7. DNAはPCR法で増幅しないでください(WGAサンプルは除外します。)
- 1.8. DNAは精製方法外では一切処理しないでください(例:重亜硫酸塩サンプルは除外します。)
- 1.9. 必要なDNAの総量は、製品説明において、指定の濃度(サンプルの要件1.3)の最低必要量(第II項)として記載されているとおりです。

2. サンプル提出手順

お客様は、以下に概要が記載されたとおりに、イルミナにサンプルを提出することに同意されたものとします。以下の事柄をよくお読みください。

- 2.1. サンプル数50未満のプロジェクト: 全サンプルを1つのバッチで提出してください。定量(第1.3項-第1.5項)に満たないサンプルがある場合には、一度だけ交換することができ、そのバッチは新しいサンプルが届くまでそのまま保留されます。そのサンプルが再び不十分な場合には、そのサンプルについてはシーケンスは行わず、お客様にはサービス代金を請求致しません。また、POの当該サンプルに対応する部分はキャンセルされます。
- 2.2. サンプル数50以上のプロジェクト: 全サンプルを合計3つまでのバッチ(異なるタイミングで出荷可能)で提出してください。定量(第1.3項-第1.5項)に満たないサンプルがある場合には、一つのバッチについて一度だけ交換することができ、そのバッチは新しいサンプルが届くまでそのまま保留されます。そのサンプルが再び不十分な場合には、そのサンプルについてはシーケンスは行わず、お客様にはサービス代金を請求致しません。また、POの当該サンプルに対応する部分はキャンセルされます。
- 2.3. サンプル数96以上のプロジェクト: できれば、全96ウェルプレートで提出してください。
- 2.4. 全プロジェクトサイズについて: 全部が埋まらないプレートについては、列ごとに埋めてください。プロジェクトマネージャーが、お客様の正しいフォーマット作りをサポートします。一つのプレートで提出されたサンプルが定数に10%超不足する場合には、プレート全体を交換のために返却します。各バッチは、そのバッチの全サンプルが作業を開始できる状態となる(定数を満たす)まで作業が開始されません。

3. シーケンスプロセス

ヒトのシーケンスデータは、短いインサートのライブラリーを用い、最低読取長2x100bpのペアエンドシーケンスで産出します。サンプルは、選択された製品説明に指定された最低カバレッジ以上となるようシーケンスされます。カバレッジは、常染色体の参照配列にアライメントされた総塩基数を、常染色体の参照ゲノムの既知の総塩基数で割って算出されます。

4. サンプル目録

高品質のデータを確実に得るために、必ずサンプルの性質を記載した目録を提出してください。イルミナのサービスラボでは、標準化された手順で作業が行われますので、なるべく早い段階で用意されたサンプルのバリエーションを把握することが重要となります。各サンプルについて、サンプルの種類(癌又は正常)、マッチペアバーコード様式でのサンプルの関連性(同じ個人から採取した複数のサンプル)、親に関する情報、リプレケートのサンプルに関する情報を開示してください。イルミナは、お客さまのプロジェクトに割り当てられたバーコードのついた目録のテンプレートを提供します。

お客様の方で、以下の項目を埋めてください。

目録内の項目：

グループID

サンプルID

プレートバーコード

ウェル

サンプルウェル

種

性別(M/F/U)

量(ul)

濃度 (ng/ul)

OD 260/280

組織源

抽出方法

民族性

親1ID

親2ID

リプレケートID

癌サンプル(肯否)

適合サンプルID

備考

希望範囲

注:遺伝学的に同一のサンプル(例:腫瘍/正常のセット、一卵性双生児、同じ個人から採取されたレプリカのサンプル)は、別の、イルミナから支給されるバーコードのついたプレートで発送してください。

イルミナにサンプルを送付する前に、イルミナの担当者にサンプル目録を送って確認を受けてください。

5. 解析結果

イルミナは、受け取った各DNAサンプルを、製品説明に記載された最低カバレッジでシーケンスします。問題なくシーケンスが行われた各サンプルについて、イルミナは以下のデータセットを提供します。

- 5.1. 標準WGSについては、全パスフィルタリード数と品質スコア(参照ゲノムと合致しないリード数も含みます。)を、可視化及び下流解析に適するように、アーカイブ上のBAMフォーマットファイルで提供します。リード数はNCBI genome build 37に揃えられます。Fastqファイルフォーマットは支給されるBAMファイルから取り出せませんが、交付はされません。段階的ゲノムについては、Fastq formatリード数とフェーズドvcfファイルを追加ファイルで提供します。癌分析については、体細胞変異を追加ファイルで提供します。
- 5.2. 参照配列をカバーできた位置については、参照配列と比較したSNPコール、挿入、欠失及び構造変異体、並びにアリルコール及び信頼度スコアをvcfファイル及びgvcfファイルで提供します。
- 5.3. HumanOmni2.5-8又は同等の機器用の全ゲノムジェノタイプングアレイデータを提供します。提供されるファイルには、お客様がGenomeStudioプロジェクトを製作することができるように、製品目録、標準クラスターファイル、サンプルシート及び強度ファイル(idats)が含まれています。フォワードコール及びデザインコールを含むジェノタイプング結果ファイルも、vcfファイル様式で提供します。
- 5.4. サンプルごとに、サンプルの統計を要約した要旨報告書をPDFで提供します。フェージング解析については、サンプルのフェージング(層化)の統計を要約したフェージングの要旨報告書をPDFで提供します。癌分析については、腫瘍/正常データセットごとの体細胞変異統計を要約した癌分析の要旨報告書をPDFで提供します。

6. 納期

解析結果の納期は、プロジェクト開始時に、サンプルの数とその時点の研究所の順番待ちの状態に応じて決定します。シーケンスをIGNサービスプロバイダーに再委託する場合には、納期は受託したプロバイダーのその時点での順番待ちの状態によります。