

illumina®

NextSeq 1000/2000

Product Documentation

ILLUMINA PROPRIETARY

文書番号：200027171 v02 JPN

2023年5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。

本文書およびその内容は、Illumina, Inc. およびその関連会社（以下、「イルミナ」という）の所有物であり、本文書に記載された製品の使用に関連して、イルミナの顧客が契約上使用することのみを意図したものであり、その他の目的を意図したものではありません。本文書およびその内容を、イルミナの書面による事前同意を得ずにその他の目的で利用または配布してはならず、また方法を問わず、その他伝達、開示または複製してはなりません。イルミナは、本文書によって、自身の特許、商標、著作権またはコモンロー上の権利に基づくいかなるライセンスも譲渡せず、また第三者の同様の権利も譲渡しないものとします。

本文書に記載された製品の適切かつ安全な使用を徹底するため、資格を有した、適切なトレーニングを受けた担当者が、本文書の指示を厳密かつ明確に遵守しなければなりません。当該製品の使用に先立ち、本文書のすべての内容を熟読し、理解する必要があるものとします。

本文書に含まれるすべての説明を熟読せず、明確に遵守しない場合、製品を損ない、使用者または他者を含む個人に傷害を負わせ、その他の財産に損害を与える結果となる可能性があり、また本製品に適用される一切の保証は無効になるものとします。

イルミナは、本文書に記載された製品（その部品またはソフトウェアを含む）の不適切な使用から生じる責任、または、顧客による当該製品の取得に関連してイルミナから付与される明示的な書面によるライセンスもしくは許可の範囲外で当該製品が使用されることから生じる責任を一切負わないものとします。

© 2023 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 をご覧ください。

目次

システムの概要	1
装置のハードウェア	2
統合ソフトウェア	4
Process Management	5
シーケンスプロトコールのダイアグラム	6
シーケンスの仕組み	7
安全性およびコンプライアンス	8
安全性に関する考慮事項と記号	8
製品コンプライアンスと規制に関するステートメント	9
サイトの準備	13
ラボ要件	14
PCR手順に対するラボのセットアップ	16
電源要件	16
環境的制約	18
ネットワークの考慮事項	19
システム構成	24
ユーザーアカウント要件	24
BaseSpace Sequence HubおよびProactiveサポートの設定	26
デフォルト出力フォルダの場所の指定	27
カスタムリファレンスゲノムのインポート	30
ノイズベースラインファイルのインポート	31
CNVコーリング用の正常サンプルのパネルのインポート	32
ランモードの設定	33
装置のカスタマイズ	34
カスタムプライマー	36
カスタムプライマーの調製と添加	37
カスタムプライマーのランセットアップ	38
キット構成	39
消耗品および機器	40
シーケンス消耗品	40
補助的な消耗品	43
補助的な機器	46

シーケンスプロトコール	48
シーケンスに関する考慮事項.....	48
袋入りカートリッジの融解	49
装置上での変性および希釈	51
手動での変性および希釈	53
消耗品のカートリッジへのロード	56
シーケンスランの開始.....	59
シーケンスの出力	71
Real-Time Analysisの概要.....	71
Real-Time Analysisのワークフロー	73
シーケンス出力ファイル	76
DRAGENによる二次解析の出力ファイル	77
DRAGENによる二次解析の出力フォルダーの構成.....	85
メンテナンス	88
ハードドライブスペースのクリア	88
ソフトウェアのアップデート.....	88
DRAGENのワークフローおよびライセンスのアップデート	90
エアフィルターの交換.....	91
トラブルシューティング	94
エラーメッセージの解消	94
消耗品を保管庫に戻す	94
ランの取り消し	95
ランのリキュー	95
装置の再起動	96
システムチェックの実施	97
工場出荷時の設定に戻す	98
インストール済みイメージの取得	98
取得したイメージの回復	98
リソースおよび参考資料	99
ダークサイクルシーケンス	99
サンプルシートv2のリソース.....	101
改訂履歴	101

システムの概要

このセクションでは、Illumina® NextSeq™ 1000/2000 システムの概要（ハードウェア、ソフトウェア、データ解析に関する情報など）について説明します。また、本文書全体で使用されている主要な概念と用語をまとめています。詳細な仕様、データシート、アプリケーション、関連製品については、[イルミナサポートサイト](#)にある NextSeq 1000/2000 システム製品ページを参照してください。

機能

- **アクセスのしやすさと高い信頼性**：NextSeq 1000/2000 は、DRAGEN によるローカル解析と、装置上での変性および希釈機能を備えています。装置のメンテナンスを容易にするため、イメージングモジュールはシステムに統合され、フルイデックスコンポーネントは消耗品に組み込まれています。
- **1回のステップで消耗品をロード**：使い捨てのカートリッジには、ランに必要なすべての試薬があらかじめ充填されています。ライブラリーとフローセルをカートリッジに直接ロードした後、カートリッジを装置にロードします。RFID が統合されており、正確な追跡が可能です。
- **NextSeq 1000/2000 ソフトウェア**：統合されたソフトウェアスイートが動作の制御やイメージの処理を行い、ベースコールを生成します。
 - **クラウドモード**：BaseSpace Sequence Hub 上の Instrument Run Setup を使用してランを計画します。選択した解析ワークフローがクラウドで自動的に開始されます。ランデータと解析結果もクラウドで提供されます。
 - **ハイブリッドモード**：BaseSpace Sequence Hub 上の Instrument Run Setup を使用してランを計画します。選択した解析ワークフローが装置上の DRAGEN ソフトウェアを介して開始されます。
 - **ローカルモード**：サンプルシート v2 ファイル形式を使用してローカルでランを計画します。選択した解析ワークフローが装置上の DRAGEN ソフトウェアを介して自動的に開始されます。[Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、ランの完了後に BaseSpace Sequence Hub アプリを介して手動で解析を開始することもできます。
 - **スタンドアロンモード**：サンプルシートを使用せずにランを計画します。

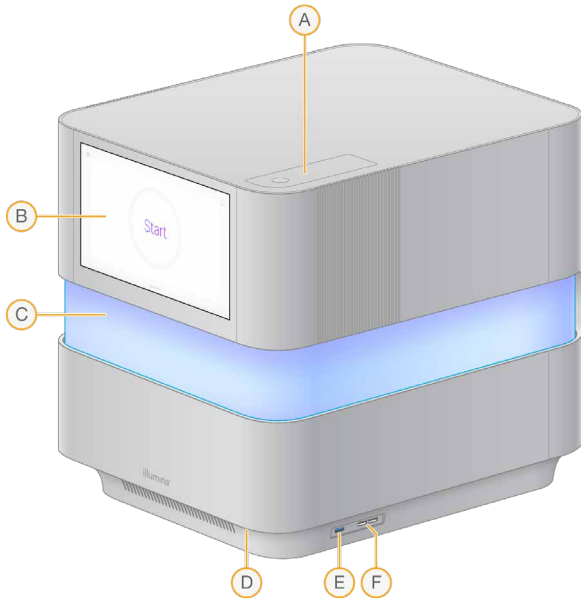
安全性検討事項

本システムで何らかの操作を行う前に、[1 ページの「システムの概要」](#)をお読みください。

装置のハードウェア

NextSeq 1000/2000 システムは、電源ボタン、モニター、ステータスバー、消耗品コンパートメント、USB ポートから構成されています。

図 1 外部システムコンポーネント



- A. **エアフィルターコンパートメント**：交換可能なエアフィルターにアクセスできます。
- B. **タッチスクリーンモニター**：コントロールソフトウェアインターフェースから装置の設定およびセットアップができます。視野角を調節するには、モニターを手動で傾けます。
- C. **ステータスバー**：ワークフローの進捗状況に合わせて光の色が変化します。青と紫は双方向性（プレランチェックなど）を示し、マルチカラーは注意を要する事象やデータがあること（シーケンスの完了など）を示します。重大なエラーは赤い光で示します。
- D. **電源ボタン**：装置の電源を制御します。システムがオンの場合は点灯、オフの場合は消灯し、システムはオフであるが電源トグルスイッチがオンになっている場合は点滅します。
- E. **USB 3.0 ポート**：データ転送用の外部ポータブルドライブを接続します。
- F. **USB 2.0 ポート**：マウスとキーボードを接続します。

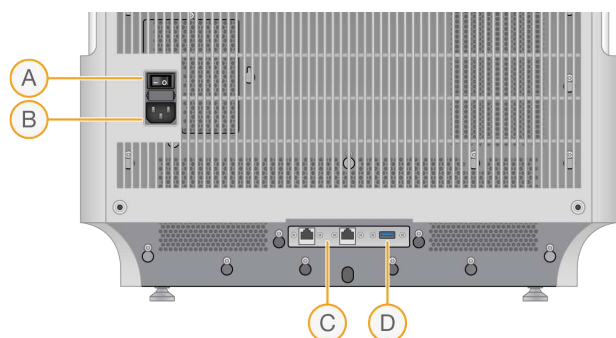
電源と補助装置の接続

装置をゆっくりと動かすことで、装置の背面にある電源スイッチ、USB ポート、その他の補助装置の接続部にアクセスできます。

装置の背面には、電源コードの差込口（インレット）、装置への電力供給を制御するスイッチ、オプションのイーサネット接続用のイーサネットポート（2つ）があります。USB 3.0 ポートには、必要に応じてデータ転送用の外部ポータブルドライブを接続できます（この Linux ベースのプラットフォームでは、exFAT はサポートされていません）。

NextSeq 1000/2000 システムにはイーサネットポートが 2 つ搭載されており、システムの機能と柔軟性が向上します。例えば、一方のイーサネットポートを内部ネットワークドライブとの通信に使用し、もう一方を BaseSpace Sequence Hub や Proactive サポートなどの外部通信に使用できます。

図 2 背面パネルコンポーネント

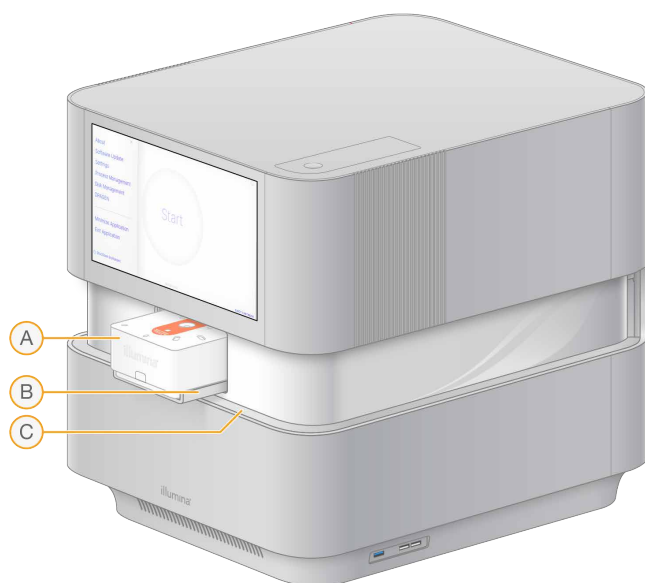


- A. **トグルスイッチ**：装置への電力供給をオンまたはオフにします。
- B. **電源インレット**：電源コードを接続します。
- C. **イーサネットポート (2つ)**：オプションのイーサネットケーブルを接続します。
- D. **USB 3.0 ポート**：データ転送用の外部ハードドライブを接続します。

消耗品コンパートメント

消耗品コンパートメントには、シーケンスランを実行するときにフローセルと希釈済みライブラリーを含むカートリッジが収納されます。

図 3 ロードした消耗品コンパートメント



- A. **カートリッジ**：フローセル、ライブラリー、試薬が含まれており、ラン中に使用済み試薬を回収します。
- B. **トレイ**：シーケンス中にカートリッジを保持します。
- C. **バイザー**：消耗品コンパートメントにアクセスするときに開きます。

統合ソフトウェア

システムソフトウェアスイートには、シーケンスランおよび解析を実行するアプリケーションが統合されています。

- **NextSeq 1000/2000 Control Software** : 装置の動作を制御し、システムの設定、シーケンスランのセットアップ、シーケンス進行中のラン統計のモニタリングを行うためのインターフェースを提供します。NextSeq 1000/2000 Control Software v1.5 では、Sequencing Analysis Viewer (SAV) v2.5.12 以降を使用してください。
- **Real-Time Analysis (RTA3)** : ランの実行中にイメージ解析とベースコーリングを行います。詳細については、[71 ページの「シーケンスの出力」](#) を参照してください。
- **Universal Copy Service** : ランフォルダーにあるシーケンス出力ファイルを BaseSpace Sequence Hub (該当する場合) および出力フォルダーにコピーします。コピー先でこれらの出力ファイルにアクセスできます。
- **DRAGEN** : アプリケーションの一部のメニューのために、ハードウェアアクセラレーションを利用した二次解析を実行します。

コントロールソフトウェアは、インタラクティブに操作できるだけでなく、自動バックグラウンドプロセスも実行します。Real-Time Analysis と Universal Copy Service は、バックグラウンドプロセスのみを実行します。

システム情報

左上にあるコントロールソフトウェアのメニューを選択し、[About] セクションを開きます。[About] セクションには、イルミナの問い合わせ情報と、以下のシステム情報が表示されます。

- 装置のシリアルナンバー
- コンピューター名
- システムスイートのバージョン
- イメージ OS のバージョン
- 総ラン数

注意事項およびアラート

注意事項アイコンは右上にあります。警告またはエラーが発生すると、画面の右側にパネルが現れて注意事項が表示されます。注意事項アイコンはいつでも選択できます。このアイコンを選択すると、現在の注意事項または注意事項の履歴のリストが表示され、警告とエラーを確認できます。

- 警告は注意する必要がありますが、ランを停止する必要はありません。確認以外の操作は不要です。
- エラーはランの開始前または進行中に対処する必要があります。

コントロールソフトウェアの最小化

他のアプリケーションにアクセスする際は、コントロールソフトウェアを最小化します。例えば、File Explorer を使用して出力フォルダーを見るときやサンプルシートを探すときに最小化します。

1. コントロールソフトウェアのメニューから **[Minimize Application]** を選択します。
コントロールソフトウェアが最小化されます。
2. コントロールソフトウェアを最大化するには、ツールバーから **[NextSeq 1000/2000 Control Software]** を選択します。

Process Management

[Process Management] 画面には、`/usr/local/illumina/runs` に保存されている一時的なランが表示されます。各ランは、ランの日付、名前、ID で識別されます。ラン、二次解析、出力フォルダー、クラウドのステータスなどの情報も、ランごとに表示されます。ランを選択して、ワークフローや品質メトリクスに関する詳細（% Q30 以上の平均値、PF 全リード、総収量など）を見ることができます。ランを削除してスペースを空けるには、[88 ページの「ハードドライブスペースのクリア」](#)を参照してください。装置上の解析をリキューするには、[95 ページの「ランのリキュー」](#)を参照してください。

Run Status

このセクションには、シーケンスランのステータスが表示されます。

- **In Progress** : シーケンスランが進行中です。
- **Complete** : シーケンスランが完了しました。
- **Stopped** : シーケンスランが停止しました。
- **Errored** : シーケンスランにエラーがあります。

Secondary Analysis Status

このセクションには、装置に搭載されている DRAGEN による二次解析のステータスが表示されます。解析が BaseSpace Sequence Hub で行われている場合、このセクションには [N/A] と表示されます。

- **Not Started** : DRAGEN による解析はまだ開始されていません。
- **In Progress** : DRAGEN による解析が進行中です。
- **Stopped** : DRAGEN による解析が停止しました。
- **Errored** : DRAGEN による解析にエラーがあります。
- **Complete** : DRAGEN による解析が完了しました。

Output Folder Status

このセクションには、出力フォルダーにコピーされるファイルのステータスが表示されます。

- **In Progress** : ファイルが出力フォルダーにコピーされています。
- **Complete** : ファイルが出力フォルダーに正常にコピーされました。

Cloud (BaseSpace Sequence Hub) Status

このセクションには、クラウド経由で BaseSpace Sequence Hub にアップロードされるファイルのステータスが表示されます。

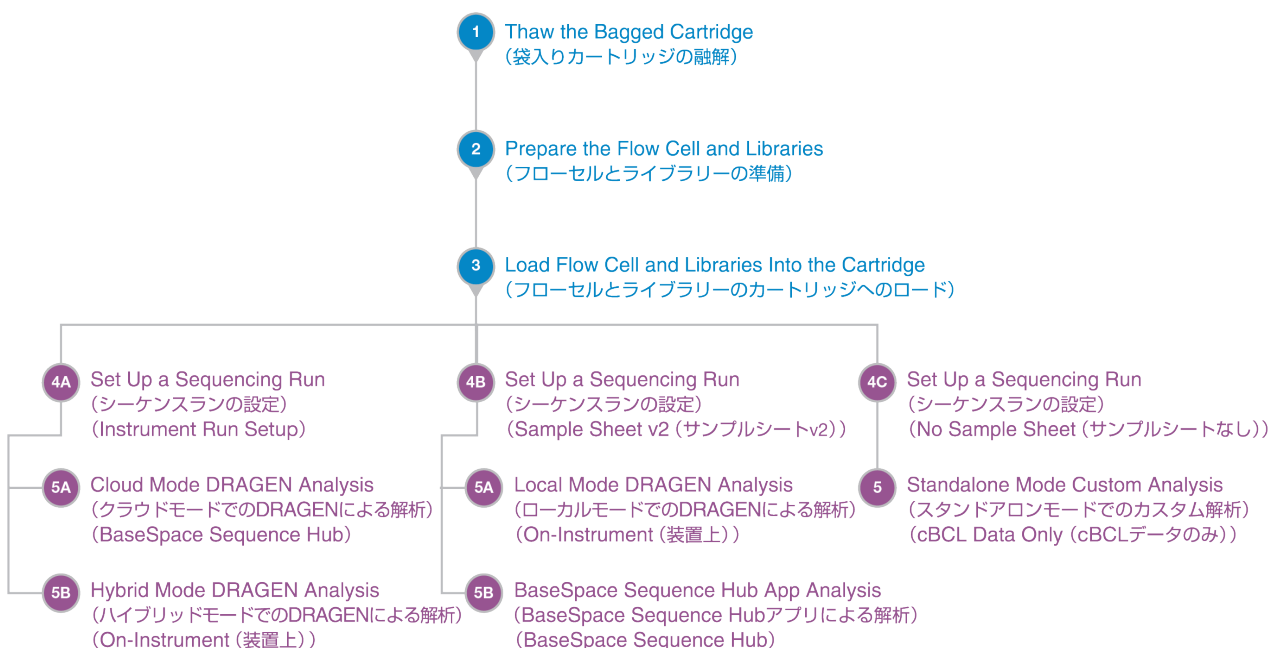
- **In Progress** : コントロールソフトウェアによってファイルが BaseSpace Sequence Hub にアップロードされています。
- **Complete** : ファイルが BaseSpace Sequence Hub に正常にアップロードされました。

ステータス問題のトラブルシューティング

- ランが進行中の場合は、いったん [Process Management] 画面を閉じ、5 分ほど待ってから再び画面を開きます。
- ランが進行中ではない場合は、装置を再起動した後、[Process Management] 画面を再び開きます。[96 ページの「装置の再起動」](#)を参照してください。

シーケンスプロトコールのダイアグラム

次のダイアグラムは、NextSeq 1000/2000 によるシーケンスの手順を示します。



シーケンスの仕組み

NextSeq 1000/2000 システムでのシーケンスは、クラスター形成、シーケンス、解析のステップで構成されています。それぞれのステップはシーケンスランの実行中に自動的に行われます。システム設定によっては、ランの完了後に装置外で引き続き解析が実行されます。

クラスター形成

ライブラリー¹は装置上で自動的に一本鎖に変性され、さらに希釈されます。クラスター形成中、単一の DNA 分子がフローセルの表面に結合し、増幅されてクラスター²を形成します。クラスター形成には約 4 時間かかります。

シーケンス

クラスターは 2 色チャンネルケミストリー（緑色のチャンネルと青色のチャンネル）を使ってイメージングされ、4 つのヌクレオチドのデータにエンコードされます。フローセル上の 1 つのタイルのイメージングが終了した後、次のタイルがイメージングされます。このプロセスがシーケンスサイクルごとに繰り返されます（1 サイクルあたり約 5 分）。イメージ解析の後、Real-Time Analysis ソフトウェアがベースコーリング³、フィルタリング、およびクオリティスコアリング⁴を行います。

一次解析

ランの実行中に連結ベースコールファイル⁵(*cbcl)が作成され、データ解析のために指定した出力フォルダーに自動的に転送されます。シーケンスラン中に、Real-Time Analysis (RTA3) ソフトウェアによってイメージ解析とベースコーリングが行われます。シーケンスが完了すると、二次解析が開始されます。データの二次解析の方法は、選択したアプリケーションとシステム設定によって異なります。

二次解析

最初の一次解析が完了すると、選択した解析モードで使用可能ないずれかの解析パイプラインを使用して、DRAGEN が二次解析を実行します。

- BaseSpace Sequence Hub の詳細については、『[BaseSpace Sequence Hub Online Help](#)』を参照してください。
- DRAGEN の詳細については、[DRAGEN Bio-IT Platform のサポートページ](#)を参照してください。
- すべてのアプリケーションの概要については、『[BaseSpace Apps](#)』を参照してください。

¹ シーケンス用にアダプターが付加された DNA または RNA 由来のサンプル。調製方法にはさまざまな種類があります。

² 1 つのシーケンスリードを生成する、フローセルの単一クローンの DNA 鎖のグループ。フローセル上の個々の DNA 鎖がテンプレートのシードとなり、これが増幅されて数百、数千のコピーから成るクラスターが形成されます。例えば、10,000 のクラスターから成るフローセルは、10,000 のシングルリード、または 20,000 のペアエンドリードを産出します。

³ 特定のサイクルにおいて、1 つのタイル上にあるすべてのクラスターの塩基 (A、C、G、T) を決定します。

⁴ ベースコールごとにいくつかのクオリティ予測因子を計算し、その値を基に Q スコアを割り当てます。

⁵ 各シーケンスサイクルのすべてのクラスターのベースコールとその関連するクオリティスコアが含まれます。

安全性およびコンプライアンス

このセクションでは、NextSeq 1000/2000 システムの設置、アフターサービス、および操作に関連する重要な安全性情報を示します。また、製品コンプライアンスと規制に関するステートメントも提供します。本システムで何らかの操作を行う前に、この情報をお読みください。

本システムの生産国および製造日は、本装置に貼付されているラベルに記載されています。

本装置の環境に関連する仕様については、[18 ページの「環境的制約」](#)を参照してください。

安全性に関する考慮事項と記号

このセクションでは、本装置の設置、アフターサービス、および操作に関連する潜在的な危険について説明します。これらの危険がご自身に及ぶような形で本装置に触れたり操作したりしないでください。

全般的な安全性に関する警告

すべての職員が、必ず本装置の正しい操作方法と安全性に関する考慮事項に関連する訓練を受けるようにしてください。



このラベル表示のある区域で作業する際は、職員または本装置へのリスクを最小限に抑えるため、すべての操作方法に従ってください。

レーザーの安全性に関する警告



NextSeq 1000/2000 システムはクラス 1 のレーザー製品であり、クラス 4 レーザーを 3 つ搭載しています。

クラス 4 レーザーは直接光も拡散反射光も目に対して危険です。クラス 4 レーザー放射の直接光または反射光に目や皮膚を曝露させないようにしてください。クラス 4 レーザーは可燃性物質の発火を引き起こす恐れがあり、直接的な曝露により重度の皮膚火傷や皮膚損傷を起こすことがあります。

パネルを取り外した状態で本装置を操作しないでください。バイザーが下がっている場合、安全インターロックスイッチにより、レーザーエンジンへの電源が遮断されます。パネルを取り外した状態で本装置を操作する場合、レーザーの直接光または反射光に曝露するリスクが生じます。

電気の安全性に関する警告

本装置の外部パネルを取り外さないでください。ユーザーが点検できるコンポーネントは装置内部にありません。パネルを取り外した状態で本装置を操作すると、線間電圧および直流電圧に曝露する恐れがあります。感電を防ぐため、ピエゾカバーを外さないでください。このカバーを外すことはできません。このカバーは 120 ボルト DC への曝露を防ぎます。



本装置は、100 ~ 240 ボルト AC で駆動し、50 ~ 60 Hz で作動します。背面および側面のパネルには危険な電圧源がありますが、他のパネルを取り外さない限りその電圧源に曝露することはありません。本装置の電源が入っていない状態でも、装置に電圧が供給されています。感電防止のため、本装置の操作は、すべてのパネルが取り付けられている状態で行ってください。

電源コードの仕様と保護接地およびヒューズに関する情報については、[16 ページの「電源要件」](#)を参照してください。

高温面の安全性に関する警告

パネルを取り外した状態で本装置を操作しないでください。

重い物体の安全性に関する警告



本装置の重量はおよそ 141 kg (311 ポンド)、サーバーの重量はおよそ 16.1 kg (35 ポンド) であり、落下したり取り扱いを誤ったりすると重篤な損傷を受ける可能性があります。

機械の安全性に関する警告

試薬カートリッジのロード中または排出中に、LED バイザーに指を近づけないでください。

製品コンプライアンスと規制に関するステートメント

製品認証およびコンプライアンス

NextSeq 1000/2000 は以下の指令に準拠しています。

- EMC 指令 2014/30/EU
- 低電圧指令 2014/35/EU
- 無線機器指令 2014/53/EU

EU 適合宣言書および準拠証明書の全文は、イルミナウェブサイトの jp.support.illumina.com/certificates.html から入手できます。

特定有害物質使用制限指令 (RoHS)



このラベルは、本装置が廃棄物に関する WEEE 指令に準拠していることを示します。

お使いの装置のリサイクルについては、jp.support.illumina.com/certificates.html にアクセスしてください。

人体への無線周波の曝露

本装置は、Title 47 CFR § 1.1310 Table 1 に定められている、一般向けの最大許容線量（MPE）限界値に準拠しています。

本装置は、職業的または専門的環境において無線自動識別（RFID）に使用される、0 Hz から 10 GHz の周波数範囲内で作動する装置のヒト電磁場曝露（EMF）限界値に準拠しています（EN 50364:2010 sections 4.0）。

RFID のコンプライアンスについては、『RFID Reader Module Compliance Guide』（文書番号：1000000002699）を参照してください。

規制およびコンプライアンスステートメント

FCC コンプライアンス

本装置は FCC（連邦通信委員会）規則のパート 15 に準拠しています。操作については次の 2 つの条件があります。

1. 本装置は、有害な干渉を引き起こさない。
2. 本装置は、望ましくない操作を引き起こす可能性のある干渉を含め、受信したいずれの干渉も受け入れることができる。

! | コンプライアンスに責任を負う当事者によって明確に承認されていない本装置に対する変更または改造は、本装置を操作するユーザー権限を無効にする場合があります。

i | 本装置は、FCC 規則のパート 15 に規定されたクラス A のデジタル機器の限界値に適合することが試験され、確認されています。これらの限界値は、本装置を商業的環境で操作する際の有害な干渉に対し、適切な保護を行うために設計されています。

本装置は、無周波数エネルギーを発生、使用、放射することがあり、設置マニュアルに従って設置および使用しない場合、無線通信を妨害する恐れがあります。住宅地域での本装置の操作は有害な干渉を発生させる可能性があり、ユーザーはユーザー自身の費用でこの干渉を是正する必要が生じることがあります。

FCC シールドケーブル

シールドケーブルを本装置に使用し、確実にクラス A の FCC 限界値に準拠する必要があります。

IC コンプライアンス

このクラス A のデジタル機器は、Canadian Interference-Causing Equipment Regulations のすべての要件を満たしています。

本装置は、カナダ産業省のライセンス適用免除 RSS 標準に適合しています。操作については次の 2 つの条件があります。

1. 本装置は、干渉を引き起こさない。
2. 本装置は、装置の望ましくない操作を引き起こす可能性のある干渉を含め、いずれの干渉も受け入れることができる。

EMC に関する考慮事項

本装置は CISPR 11 のクラス A 基準に準拠して設計され検査されました。国内環境では電波障害を引き起こす場合があります。電波障害が生じる場合、軽減策を講じる必要がある場合があります。

本装置は、正常動作を妨げる恐れのある、強い電磁放射源の近くで使用しないでください。

本装置は管理された電磁環境で使用する必要があり、承認された無停電電源装置 (UPS) に接続することが推奨されます。

韓国コンプライアンス

해당 무선 설비는 운용 중 전파 혼신 가능성이 있음 .

A 급 기기 (업무용 방송통신기자재)

이 기기는 업무용 (A 급) 전자파적합기기로서 판매자 또는 사용자는 이 점을

주의하시기 바라며 , 가정 외의 지역에서 사용하는 것을 목적으로 합니다 .

アラブ首長国連邦コンプライアンス

- TRA 登録番号 : ER0117765/13
- 販売業者番号 : DA0075306/11

タイコンプライアンス

本電気通信装置は、NTC/NBTC の技術要件に準拠しています。

中国コンプライアンス

警告

此为 A 級产品，在生活环境中，该产品可能会造成无线电干扰。在这种情况下，可能需要用户对干扰采取切实可行的措施。

仅适用于非热带气候条件下安全使用

仅适用于海拔 2000m 一下地区安全使用

台湾コンプライアンス

警告使用者

這是甲類的資訊產品

在居住的環境中使用時

可能會造成射頻干擾，在這種情況下

使用者會被要求採取某些適當的對策

統合解析サーバーに関する台湾コンプライアンス

本產品為國內裝置使用時，其電源僅限使用架構電源模組所提供電源直流輸入，不得使用交流電源及附加其他電源轉換裝置提供電源者，其電源輸入電壓及電流請依說明書規定使用

日本コンプライアンス

この装置は、クラスA機器です。この装置を住宅環境で使用すると電波妨害を引き起こすことがあります。この場合には使用者が適切な対策を講ずるよう要求されることがあります。VCCI - A

サイトの準備

このセクションでは、NextSeq 1000/2000 システムの設置と操作を目的としてサイトを準備するための仕様とガイドラインを示します。

データの保存やデータの使用例については、『Illumina Instrument Control Computer Security and Networking』（文書番号：1000000085920）を参照してください。

配送と設置

認可を受けたサービスプロバイダーが、システムの配送、コンポーネントの梱包開封を行い、ラボベンチに装置を設置します。配送前に、ラボスペースとベンチを準備してください。

! | 認可を受けた担当者のみが装置の梱包開封、設置または移動を行うことができます。装置の取り扱いミスは、光学アライメントに影響を与えたり、装置のコンポーネントに損傷を与えたりすることがあります。

イルミナの担当者が、装置の設置および準備を行います。装置をデータ管理システムまたはリモートネットワークロケーションに接続する場合は、設置日前に、データストレージのパスが選択されていることを確認してください。イルミナの担当者が、設置時にデータ転送プロセスをテストすることができます。

装置の設置、メンテナンスおよびサービスを利用する場合には、装置の USB ポートにアクセスできる必要があります。

! | イルミナの担当者が装置を設置および準備した後は、装置を移設しないでください。装置を不適切に移動させると光学アライメントに影響を与え、データの整合性が損なわれることがあります。装置の移設が必要な場合は、イルミナの担当者にお問い合わせください。

木枠梱包の寸法と内容

NextSeq 1000/2000 システムは、1つの木枠に入れて出荷されます。以下の寸法表で、出荷用木枠を運び入れるために最低限必要なドア幅を確認してください。

測定	木枠梱包の寸法
高さ	118 cm (46.5 インチ)
幅	92 cm (36.2 インチ)
奥行き	120 cm (47.2 インチ)
重量	232 kg (511.5 ポンド)

木枠には、装置と以下のコンポーネントが入っています。

- 電源コード：243.8 cm (8 フィート)
- キーボードとマウスが入った Accessories kit (付属品キット)

ラボ要件

以下の仕様と要件に従ってラボスペースを準備してください。

装置の寸法

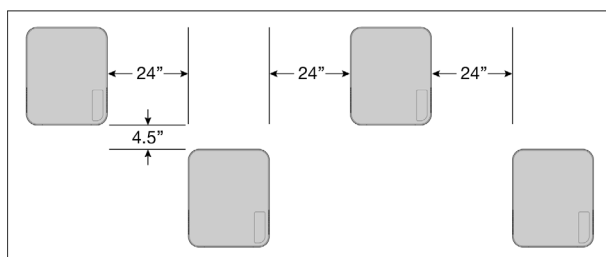


測定	装置の寸法
高さ	60 cm (23.6 インチ)
幅	55 cm (21.7 インチ)
奥行き	65 cm (25.6 インチ)
重量	141 kg (310.9 ポンド)

設置要件

装置は、適正な換気ができ、電源コンセントにアクセスができ、装置のサービス時にアクセスができるよう設置します。

- 担当者がコンセントから電源コードをすばやく外せるように装置を設置してください。
- 複数台の装置を背中合わせで配置する場合は、各側面に少なくとも 61 cm (24 インチ) のスペースが必要です。



- 熱い排気が装置の吸気口に吹き込まないようにしてください。
- 装置の周囲に障害物を置かず、装置に四方からアクセスできるようにしてください。これにより、空気が適切に循環し、メンテナンスの際に装置に簡単にアクセスできます。

- 装置の前面にキーボード用の十分なスペースを設けてください。
- 装置の上に棚がある場合は、奥行きが 30.5 cm (12 インチ) 以下であることを確認してください。

アクセス	必要なスペース
側面	装置の各側面には少なくとも 50.8 cm (20 インチ) のスペースが必要です。
背面	装置の背面には少なくとも 11.4 cm (4.5 インチ) のスペースが必要です
上面	装置の上面には少なくとも 61 cm (24 インチ) のスペースが必要です。

! 装置を不適切に移動させると光学アライメントに影響を与え、データの整合性が損なわれることがあります。装置の移設が必要な場合は、イルミナの担当者にお問い合わせください。

ラボベンチガイドライン

装置には精密光学部品が内蔵されています。振動の発生源から離して、丈夫なベンチに設置してください。移動式のベンチに装置を放置しないでください。下記の測定値には、ケーブルの取り回しに必要なスペースは含まれていません。

幅	高さ	奥行き	キャスター
122 cm (48 インチ)	91.4 cm (36 インチ)	76.2 cm (30 インチ)	オプション

北米のカスタマー向けに、イルミナでは次のラボベンチを推奨しています: Bench-Tek Solutions、部品番号: BT40CR-3048BS-PS。

振動のガイドライン

ラボのフロアの振動レベルを、50 $\mu\text{m/s}$ の VC-A 基準、 $\frac{1}{3}$ オクターブの帯域幅で、周波数 8 ~ 80 Hz もしくはそれ以下に維持してください。このレベルはラボでは一般的なものです。 $\frac{1}{3}$ オクターブの帯域幅で周波数 8 ~ 80 Hz の、ISO Operating Room (ベースライン) 標準である 100 $\mu\text{m/s}$ を超過しないでください。シーケンスラン中には以下のベストプラクティスを用いて、振動を最低限に抑え、最適な性能を確保してください。

- 装置は丈夫なラボベンチに設置してください。
- 装置の上にキーボード、使用済みの消耗品、あるいはその他のものを置かないでください。
- ISO Operating Room 基準を超える振動源から離して装置を設置してください。例：
 - ラボ内のモーター、ポンプ、振動試験装置、落下試験装置、および大量の気流
 - HVAC ファン、コントローラー、ヘリポートの真下または真上のフロア
 - 装置と同じフロアでの建築または修復工事
 - 歩行者が多い場所
- 落下物や重量のある機器の移動などの振動源は、装置から 100 cm (39.4 インチ) 以上離してください。
- 本装置の操作にはタッチスクリーン、キーボード、およびマウスのみを使用してください。操作中に装置の表面に直接衝撃を与えないでください。

PCR 手順に対するラボのセットアップ

いくつかのライブラリー調製法では、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）プロセスが必要です。

PCR 産物のコンタミネーションを防ぐために、ラボでの作業を開始する前に、専用のエリアとラボ手順を確立してください。PCR 産物は試薬、装置およびサンプルをコンタミネーションする場合があります、通常のオペレーションを遅らせ不正確な結果をもたらします。

クロスコンタミネーションを避けるために、以下のガイドラインに従ってください。

- PCR 前のプロセスのためにプレ PCR エリアを設置してください。
- PCR 産物の処理を行うためにポスト PCR エリアを設置してください。
- プレ PCR とポスト PCR の器具を洗浄する際は同じ流し台を使用しないでください。
- プレ PCR とポスト PCR の専用エリアで同じ水精製システムを使用しないでください。
- プレ PCR プロトコールで使用する消耗品は、プレ PCR エリア内に保管してください。必要に応じて、それらの消耗品をポスト PCR エリアに移してください。
- プレ PCR とポスト PCR のプロセス間で機器と消耗品を共有しないでください。それぞれの場所で、機器と消耗品のセットを分けて専用にしてください。
- それぞれの場所で使用する消耗品の専用保管場所を設定してください。保管温度要件と寸法については、[40 ページの「消耗品および機器」](#)を参照してください。

電源要件

電力仕様

表 1 装置の電力仕様

タイプ	仕様
線間電圧	50/60 Hz で 100 ~ 240 ボルト AC
電源定格	750 ワット、最大値

表 2 サーバーの電力仕様

タイプ	仕様
線間電圧	24 ボルト DC、23A
電源定格	552 ワット、最大値

コンセント

設備は以下の機器で配線する必要があります。

- **100 ~ 120 ボルト AC の場合**：接地極付きの 15 A コンセントで、適切な電圧と接地されている専用電源が必要です。北米および日本：コンセント：NEMA 5-15
- **220 ~ 240 ボルト AC の場合**：接地極付きの 10 A コンセントで、適切な電圧と接地されている専用電源が必要です。電圧が 10% を超えて変動する場合、交流安定化電源が必要となります。

保護接地



装置には筐体から保護接地を行うための接続部があります。電源コードの安全接地により保護接地を安全基準点にします。本装置を使用する際には、電源コードの保護接地接続が良好な作動状態であることを確認してください。

電源コード

装置には国際規格の IEC 60320 C14 に準拠した電源コード差込口が付いており、地域仕様の電源コードが付属しています。

AC 電源からコードを抜いた時以外は常に高電圧が装置に供給されています。

地域規格に準拠した同等の電源コード差込口または電源コードを入手するには、Interpower Corporation などの第三者サプライヤーにお問い合わせください。

! | 装置を電源に接続するために延長コードを絶対に使用しないでください。

ヒューズ

本装置にはユーザーが交換できるヒューズはありません。

無停電電源装置

無停電電源装置（UPS）をユーザーが用意して使用することを強く推奨します。装置が UPS に接続しているかどうかにかかわらず、停電によって影響を受けたランに対しイルミナでは責任を負いかねます。標準的な発電機の電源は完全には無停電ではありません。電源が再開するまでに、通常は短期間、停電が生じます。

以下の表では推奨の UPS 仕様が地域ごとに示されています。

仕様	APC Smart UPS 1500 VA LCD 100 V 部品番号：SMT1500J (日本)	APC Smart UPS 1500 VA LCD 120 V 部品番号：SMT1500C (北米)	APC Smart UPS 1500 VA LCD 230 V 部品番号：SMT1500IC (その他の国)
最大出力	980 W / 1,200 VA	1,000 W / 1,440 VA	1,000 W / 1,500 VA
入力電圧 (公称)	100 VAC	120 VAC	230 VAC
入力周波数	50/60 Hz	50/60 Hz	50/60 Hz
入力接続	NEMA 5-15P	NEMA 5-15P	IEC-320 C14 Schuko CEE7/EU1-16P British BS1363A
寸法 (高さ×幅× 奥行)	22.5 cm × 17.2 cm × 43.9 cm (8.9 インチ × 6.8 インチ × 17.3 インチ)	21.9 cm × 17.1 cm × 43.9 cm (8.6 インチ × 6.7 インチ × 17.3 インチ)	21.9 cm × 17.1 cm × 43.9 cm (8.6 インチ × 6.7 インチ × 17.3 インチ)
重量	26 kg (57.3 ポンド)	24.6 kg (54.2 ポンド)	24.1 kg (53.1 ポンド)
標準実行時間 (500 ワット時)	23 分	23 分	23 分

該当地域以外で地域規格に準拠した同等の UPS を入手するには Interpower Corporation (www.interpower.com) などの第三者サプライヤーにお問い合わせください。

環境的制約

要素	仕様
温度	ラボの温度は 15°C ~ 30°C に維持してください。この温度は、本装置の動作温度です。ランの間は、室温が ± 2°C の範囲を超えて変動しないようにしてください。 演算サーバーの上限温度は 40°C です。
湿度	結露しないように 20 ~ 80% の相対湿度を維持してください。
高度	本装置は標高 2,000 メートル (6,500 フィート) 未満で設置してください。
空気質	本装置は、空気中浮遊微粒子の清浄度が ISO 14644-1 クラス 9 (通常の室内またはラボ内) またはそれ以上の基準に準拠した室内環境で使用してください。装置を粉塵源に近づけないでください。
換気	本装置の熱出力仕様に基づく換気に関する要件については、貴施設の担当部署にお問い合わせください。
振動	ラボのフロアの連続的な振動を、ISO Office レベルまで制限してください。シーケンスランの間は、ISO Operating Room の制限値を超えないでください。断続的な衝撃を発生させるものや障害の原因となるものは装置から離してください。

熱出力

測定電力	発熱量
750 ワット	最大 2,569 BTU/h 平均 1,700 BTU/h

騒音出力

騒音出力 (dB)	装置からの距離
≤ 70 dB	1メートル (3.3 フィート)

≤ 70 dB は、約 1メートル (3.3 フィート) の距離での普通の会話レベル内です。

ネットワークの考慮事項

NextSeq 1000/2000 システムは、ネットワークに接続して使用するよう設計されています。NextSeq 1000/2000 の制御コンピューターでは CentOS が実行され、SELinux が有効化されています。NextSeq 1000/2000 では、暗号化を有効にできません。

Manual モードでのラン実行には、ランデータをネットワーク上のストレージロケーションに転送するためのネットワーク接続が必要です。ランデータは外部ドライブまたはネットワークドライブに保存することを推奨します。NextSeq 1000/2000 システムに搭載されたローカルハードドライブは、自動転送の前にデータを一時的に保存することを目的とします。

以下の操作を実行するには、インターネット接続が必要となります。

- Illumina Proactive サポートへの装置性能データのアップロード (『Illumina Proactive Technical Note』 (文書番号: 1000000052503) を参照)
- (オプション) イルミナのテクニカルサポートによるリモートアシスタンス

サードパーティ製ソフトウェアのソフトウェア制限ポリシーとユーザーの行動については、『Illumina Instrument Control Computer Security and Networking』 (文書番号: 1000000085920) を参照してください。

ネットワーク接続

以下の推奨事項に従ってネットワーク接続を設定および構成してください。

- 装置とローカルデータ管理システム間には、専用の 1 ギガビット接続を使用してください。この接続は直接接続することも、管理されたネットワークスイッチを使用して接続することもできます。
- 接続に必要な帯域幅は次のとおりです。
 - ローカルストレージ用として、装置 1 台あたり 200 Mb/s のイントラネット帯域幅。
 - NextSeq 1000/2000 Control Software および DRAGEN Workflows (~ 15 GB) のダウンロード用として、装置 1 台あたり最低 5 Mb/s のインターネット帯域幅。ダウンロードは 6 時間後にタイムアウトします。1 時間以内にダウンロードするには、装置 1 台あたり 35 Mb/s の帯域幅が必要になります。

- BaseSpace Sequence Hubクラウドストレージ用として、装置1台当たり10 Mb/sのインターネット帯域幅（Illumina Proactive サポートを含む）。
- ランモニタリングまたは Illumina Proactive サポート専用として、システム当たり 5 Mb/s のインターネット帯域幅。
- スイッチを管理する必要があります。
- スイッチなどのネットワーク機器には、1 Gb/s 以上の容量が必要です。
- 各ネットワークスイッチ上の負荷の総容量を計算してください。接続されている装置および補助機器（プリンターなど）の数も、容量に影響を与えることがあります。
- 可能であれば、シーケンス用のトラフィックを他のネットワークから分離してください。
- ネットワークケーブルは CAT-6 ケーブルを使用することを推奨します（最低要件は CAT-5e です）。設置を始める前に、必要なケーブルが揃っていることを確認してください。

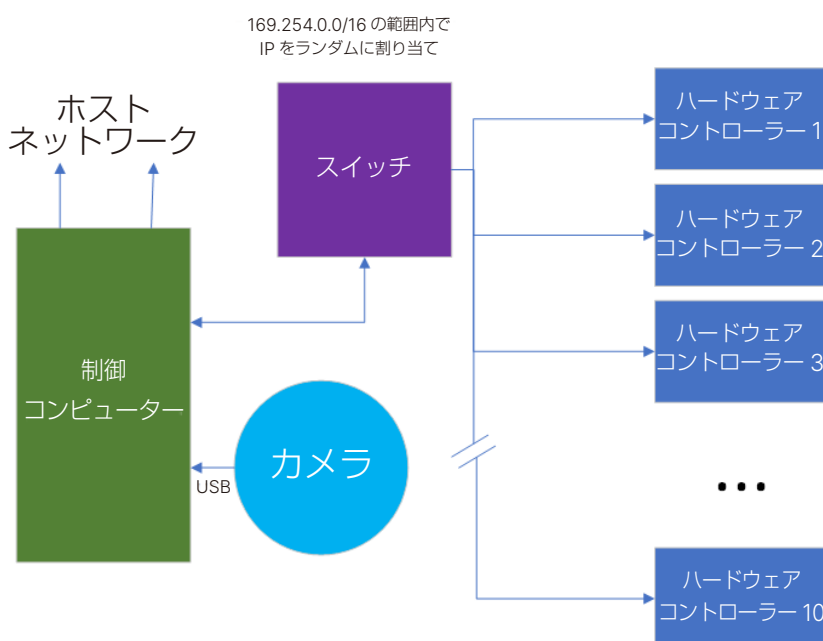
ネットワークサポート

イルミナでは、ネットワーク接続の設定やテクニカルサポートを行っていません。

以下のような要素を考慮して、ネットワークアーキテクチャにイルミナのシステムとの適合性のリスクがないか確認してください。

- **IP アドレス競合の可能性**：NextSeq 1000/2000 システムには、169.254.0.0/16 の範囲内でランダムな内部 IP アドレスが割り当てられます。IP アドレスが競合した場合、システム障害が起こる可能性があります。NextSeq 1000/2000 Control Software v1.2.0 以降は、「Docker」という仮想ネットワークインターフェースを備えており、そのデフォルト IP アドレスは 172.17.0.1/16 です。
- **IP の割り当て**：NextSeq 1000/2000 システムでは、DHCP または Static IP の割り当てがサポートされています。

制御コンピューターの接続



以下の表に制御コンピューターのネットワークポートおよびドメインを示します。ネットワーク構築の際には、これらの表を参照してください。

内部接続

接続	値	目的
OS の指定	enp5s0	内部コンポーネント間の通信 (設置後は設定または変更しないでください)
ドメイン	localhost:*	ローカルホスト対ローカルホストの通信用の全ポート (プロセス間通信に必要)
ポート	8081	Real-Time Analysis
	8080	NextSeq 1000/2000 Control Software
	29644	Universal Copy Service (UCS)

外部接続

接続	値	目的
OS の指定	enp6s0	インターネット用の優先イーサネットポート (装置後部から見たときの右側のポート)
	enp2s0	NAS やその他のネットワークストレージなど、任意で使用する二次ネットワーク接続用の優先イーサネットポート (装置後部から見たときの左側のポート)
ポート	443	BaseSpace Sequence Hub または Illumina Proactive の設定
	80	BaseSpace Sequence Hub または Illumina Proactive への設定データのアップロード
	8080	ソフトウェアのアップデート

地域プラットフォームドメイン

Universal Copy Service から BaseSpace Sequence Hub および Illumina Proactive へのアクセスを提供する地域プラットフォームドメインについては、『[Illumina Control Computer Security and Networking](#)』を参照してください。

オペレーティングシステムの設定

イルミナの装置は出荷前に仕様内で作動することがテストされ確認されています。装置インストール後の設定変更は、性能またはセキュリティのリスクをもたらす可能性があります。

以下の設定推薦事項を実施することで、オペレーティングシステムの性能およびセキュリティのリスクを軽減できます。

- パスワードは 10 文字以上のものを作成して、ローカルの ID ポリシーを補足ガイダンスとして使用してください。**パスワードを記録しておいてください。**
 - イルミナでは、お客様のログイン認証情報を保管していません。パスワードはシステムの root アカウントからリセットできます。または、シングルユーザーモードで起動する方法でもリセットできます。
 - 別の方法として、イルミナの担当者が装置を工場出荷時の設定に戻すこともできます。これを行うと、システムからすべてのデータが削除され、修理またはメンテナンスに要する時間が長くなる場合があります。
- 事前設定したユーザーへ既存の権限を与えて維持してください。必要に応じて事前設定したユーザーを使用不可にしてください。
- ハードウェアコンポーネントと通信するために使用される内部 IP アドレスは、システムによってランダムに割り当てられます。これらの IP アドレスが変更されるか、IP アドレスの割り当て方法が変更された場合、ハードウェアエラーが発生する可能性があります（機能が完全に失われる場合もあります）。
- 装置の制御コンピューターはイルミナシーケンスシステムの操作用に設計されています。ウェブの閲覧、電子メールのチェック、文書の閲覧、その他のシーケンスとは無関係の目的での使用は、品質やセキュリティの問題につながる可能性があります。

サービス

NextSeq 1000/2000 Control Software は Universal Copy Service を使用します。デフォルト設定では、Universal Copy Service によって使用される認証情報は、NextSeq 1000/2000 システムへのログインに使用されるものと同一です。

ネットワークドライブのマウント

装置のドライブまたはフォルダーを共有しないでください。本装置は、サーバーまたは長期保管場所として使用することは想定されていません。

ネットワークドライブを装置に永続的にマウントするための方法としては、Server Message Block (SMB)、Common Internet File System (CIFS)、および Network File System (NFS) のみがテストされ、サポートされています。

施設内に設置された専用の機器を使用することを推奨します。施設外の機器(クラウドまたはコロケーション)をマウントすることは避けてください。イルミナでは以下の使用を推奨しておらず、サポートしていません。

- ラン出力先としてクラウドエンドポイントを使用すること
- シンルートサーバーを介した分散ファイルシステム (DFS)
- ファイルメタデータサービスを使用し、遅延読み取りまたは書き込み操作をサポートするストレージシステム

ランまたは解析の実行中にランファイルが移動またはスキャンされた場合、データが破損するか、予期しない問題が生じる可能性があります。同様に、ランまたは解析の実行中にファイルハンドルを参照または操作することは避けてください。

完全修飾されたUNCパスは、装置からネットワークストレージをマウントするために使用できます。隠しファイルパスの使用は推奨されません。

CentOS の更新

NextSeq 1000/2000 の OS 更新プログラムをインストールするには、下記の手順に従います。

ターミナルを使用した更新プログラムのインストール

1. NextSeq 1000/2000 Control Software が開いている場合は、**[Minimize Application]** を選択します。
2. `ilmnadmin` でログインします。
3. **[Applications]** を選択します。
4. [Favorites] の下の **[Terminal]** を選択します。
5. 利用可能な更新プログラムとパッケージに関する情報を表示するには、`[sudo yum check-update]` と入力し、**[Enter]** を選択します。
6. パスワードの入力を求められたら、`ilmnadmin` のパスワードを入力します。
7. `[sudo yum update]` と入力して **[Enter]** を選択します。これで OS 更新パッケージデータベースが更新され、更新プログラムがインストールされます。

ユーザーインターフェースを使用した更新プログラムのインストール

1. NextSeq 1000/2000 Control Software が開いている場合は、**[Minimize Application]** を選択します。
2. `ilmnadmin` でログインします。
3. **[Applications]** を選択します。
4. [System Tools] の下の **[Software Updates]** を選択します。
利用可能な更新プログラムのリストが表示されます。これらの更新プログラムは、エラーの修正、セキュリティ上の脆弱性の排除、新機能の導入などを目的とします。
5. **[Install Updates]** を選択します。

システム構成

このセクションでは、ソフトウェア設定の説明など、システムのセットアップ手順について説明します。

i | 装置で Google Chromium を使用すると、ログインキーリングのロック解除を求めるプロンプトが表示されますが、このプロンプトは無視してキャンセルしても問題ありません。

ユーザーアカウント要件

Linux オペレーティングシステムには、以下のアカウントが用意されています。

- root (スーパー管理者)
- ilmnadmin (管理者)
- ilmnuser (ユーザー)

管理者アカウントは、NextSeq 1000/2000 Control Software のアップデートなどのシステムアップデートを適用する場合、または IT 担当者が永続的ネットワークドライブをマウントする場合に使用することのみを目的とします。

シーケンスなど、その他すべての機能はユーザーアカウントから実行してください。

パスワード要件

装置の設置の完了後に、イルミナのフィールドサービスエンジニアが 3 つすべてのアカウントのパスワード変更を開始します。180 日ごとにパスワードの更新を求めるメッセージが表示されるので、その都度各パスワードを変更してください。

表 3 デフォルト設定でのパスワードポリシー

ポリシー	設定
パスワード履歴の管理	5 個のパスワードを記憶
ロックアウトのしきい値	10 回の無効なログイン試行
最短パスワード長	10 文字
文字の種類 of 最小構成	数字、大文字、小文字、記号の中から 3 種類を使用
繰り返し可能な最大文字数	3 文字
パスワードの複雑性要件の遵守	無効
可逆的な暗号化を用いたパスワードの保管	無効

新規ユーザーの追加

1. ilmndadmin でログインします。
2. 電源ボタンを選択し、ilmndadmin ドロップダウンリストを開きます。
3. **[Account Settings]** を選択します。
4. **[Unlock]** を選択し、ilmndadmin のパスワードを入力します。
5. **[Add User]** を選択します。
6. [Standard] アカウントタイプを選択し、新規ユーザーのユーザー名を入力します。
7. **[Set password now]** を選択し、パスワードを入力します。
8. **[Add]** を選択します。
新規ユーザーがユーザーリストに追加されます。
9. 以下の手順に従って、新規ユーザーに NextSeq 1000/2000 Control Software に対するアクセス権を付与します。
 - a. ターミナルを開きます。
 - b. 次のように入力します。

```
$ sudo usermod -a -G ilmnusers <new user name>
```
 - c. プロンプトが表示された場合は、ilmndadmin のパスワードを入力します。
10. 以下の手順に従って、ユーザーのアクセス許可が正常に設定されたことを確認します。
 - a. 新規ユーザーのアカウントでログインします。
 - b. NextSeq 1000/2000 Control Software に移動します。
 - c. コントロールソフトウェアのメニューから **[Settings]** を選択します。
 - d. [Default Output Folder] で、出力フォルダーのパスを選択して保存できることを確認します。
エラーが発生せずに出力フォルダーのパスを選択して保存できた場合、アクセス許可は正常に設定されています。

パスワードのリセット

このセクションでは、ilmnuser、ilmndadmin、および root のパスワードをリセットする方法について説明します。パスワードの回復はできません。間違ったパスワードでログインに 10 回失敗した場合、パスワードをリセットしてもアカウントのロックアウトは回避できません。その場合、パスワードのリセットやログインの試行が可能になるまで、10 分ほど待つ必要があります。

ilmnuser のパスワードのリセット

ilmndadmin または root のパスワードを知っているユーザーは、ilmnuser のパスワードをリセットできます。

1. ilmndadmin でログインします。
2. ターミナルを開きます。
3. 「sudo passwd ilmnuser」と入力します。
4. プロンプトに対して ilmndadmin のパスワードを入力します。
5. プロンプトに対して ilmnuser の新しいパスワードを入力します。
6. パスワード確認のため、プロンプトに対して ilmnuser の新しいパスワードをもう一度入力します。

ilmnadmin のパスワードのリセット

root のパスワードを知っているユーザーは、ilmnadmin のパスワードをリセットできます。

1. root でログインします。
2. ターミナルを開きます。
3. ilmadmin のパスワードを変更する場合は「passwd ilmadmin」と入力し、ilmnuser のパスワードを変更する場合は「passwd ilmuser」と入力します。
4. プロンプトに対して新しいパスワードを入力します。
5. パスワード確認のため、プロンプトに対して新しいパスワードをもう一度入力します。

root のパスワードのリセット

root のパスワードをリセットするには、次のいずれかの方法を使用します。

- OS イメージを最後に取得した時点のパスワードを覚えている場合は、保存されているイメージに戻します。
- パスワードを覚えていない場合は、イルミナのテクニカルサポートに連絡してください。

BaseSpace Sequence Hub および Proactive サポートの設定

以下の手順に従って、BaseSpace Sequence Hub および Proactive サポートをシステムに設定します。BaseSpace Sequence Hub のアカウントをセットアップするには、『[BaseSpace Sequence Hub Online Help](#)』を参照してください。

1. コントロールソフトウェアのメニューから [**Settings**] を選択します。
2. [BaseSpace Sequence Hub and Proactive Support Settings] で、以下のいずれかのオプションを選択します。

オプション	説明および必要事項
Proactive Support Only*	迅速なトラブルシューティングが行えるように、装置性能データがイルミナに送信されます。インターネット接続が必要です。
Proactive and Run Monitoring	リモートランモニタリングのために、InterOp ファイルとログファイルを BaseSpace Sequence Hub に送信します。このオプションがデフォルト設定です。BaseSpace Sequence Hub アカウントとインターネット接続が必要になります。
Proactive, Run Monitoring and Storage	リモートモニタリングと解析のために、InterOp ファイル、ログファイル、ランデータを BaseSpace Sequence Hub に送信します。BaseSpace Sequence Hub アカウント、インターネット接続、サンプルシートが必要です。
None	ランを BaseSpace Sequence Hub アカウントから切り離し、Illumina Proactive サポートに装置性能データを送信しません。

* コントロールソフトウェアのバージョンによっては、上記のソフトウェアインターフェースの設定名は本ガイドに示された名前と異なる場合があります。

[None] 以外のオプションを選択すると、Proactive サポートが有効になります。この無料サービスを有効にすると、ユーザーが Myllumina カスタマーダッシュボードで性能データを確認できるほか、イルミナのサービスチームが問題のトラブルシューティングを迅速に行えるようになります。

i | デフォルト設定では [Proactive and Run Monitoring] がオンになっています。このサービスを利用しない場合は、[None] を選択します。

3. ステップ 2 で [None] を選択した場合は、[Save] を選択して終了します。そうでない場合は、ステップ 6 に進みます。
4. [Hosting Location] リストから、データのアップロード先となる BaseSpace Sequence Hub サーバーの場所を選択します。
装置が設置されている地域または最も近い地域にある Hosting Location を使用してください。
5. Enterprise サブスクリプションに加入している場合は、BaseSpace Sequence Hub アカウントに使用するドメイン名 (URL) を入力します。
例: <https://yourlab.basespace.illumina.com>
6. [Save] を選択します。

デフォルト出力フォルダーの場所の指定

このセクションの手順に従って、デフォルト出力フォルダーの場所を選択します。各ランの出力フォルダーは、ランセットアップ中に変更できます。この出力フォルダーには、CBCL ファイル¹ とその他のランデータが保存されます。

出力フォルダーは、BaseSpace Sequence Hub の設定で [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合を除き、必須です。デフォルト出力フォルダーには、外部ドライブまたはネットワークドライブを使用することを推奨します。装置上のフォルダーを出力フォルダーとして使用すると、シーケンスランに悪影響が及ぶ可能性があります。

外部ドライブを出力フォルダーに指定

以下の手順に従って、デフォルト出力フォルダーとして外部ポータブルドライブを選択します。NTFS 形式または GPT/EXTA 形式にフォーマットされた電源内蔵型のドライブを使用することを推奨します。

1. 装置の側面または背面にある USB 3.0 ポートを使用して、外部ポータブルドライブを接続します。外部ポータブルドライブへの書き込みが許可されていることを確認してください。読み取り専用で設定されているドライブにはデータを保存できません。
2. 外部ポータブルドライブにフォルダーを作成します。このフォルダーが、デフォルト出力フォルダーの場所になります。
この場所を外部ポータブルドライブとして装置に認識させるためには、少なくとも 2 階層分ネストしたフォルダーが必要です。
3. コントロールソフトウェアのメニューから [Settings] を選択します。
4. [Default Output Folder] で既存のフォルダーのパスを選択し、外部ポータブルドライブの新しいフォルダーに変更します。

¹各シーケンスサイクルのすべてのクラスターのベースコールとその関連するクオリティスコアが含まれます。

5. (オプション) [Run Mode] で [**Online Run Setup**] を選択している場合、[Hosting Location] ドロップダウンメニューからオプションを選択します。
6. [**Save**] を選択します。

ネットワークドライブをデフォルトの出力フォルダーに指定

以下の手順に従って、永続的ネットワークドライブをマウントし、デフォルト出力フォルダーの場所として指定します。ネットワークドライブを NextSeq 1000/2000 に永続的にマウントする方法としてサポートされているのは、Server Message Block (SMB) /Common Internet File Systems (CIFS) と Network File System (NFS) のみです。

SMB/CIFS のマウント手順

1. NextSeq 1000/2000 Control Software が開いている場合は、[**Minimize Application**] を選択します。
2. ilmadmin でログインします。
3. [**Applications**] を選択します。
4. [Favorites] の下の [**Terminal**] を選択します。
5. 「sudo touch /root/.smbcreds」と入力し、[**Enter**] を選択します。
6. パスワードの入力を求められたら、ilmadmin のパスワードを入力します。
sudo コマンドを使用するたびに、ilmadmin のパスワードの入力が必要になります。
7. 「sudo gedit /root/.smbcreds」と入力して [**Enter**] を選択し、smbcreds という名前のテキストファイルを開きます。
8. .smbcreds テキストファイルが開いたら、ネットワークログイン認証情報を次の形式で入力します。

```
username=<user name>
password=<password>
domain=<domain_name>
```

ユーザー名、パスワード、およびドメインの認証情報に括弧は含めないでください。ドメインの認証情報が必要となるのは、リモートアカウントがドメインの一部になっている場合のみです。
9. [**Save**] を選択して、ファイルを閉じます。
10. SMB/CIFS サーバーのサーバー名と共有名を特定します。
サーバー名と共有名にはスペースを使用できません。次に例を示します。
サーバー名：192.168.500.100 または Myserver-myinstitute-03
共有名：/share1
11. ターミナルで「sudo chmod 400 /root/.smbcreds」と入力して [**Enter**] を選択し、.smbcreds テキストファイルへの読み取りアクセス権を付与します。
12. 「sudo mkdir /mnt/<local name>」と入力します。
<local name> はネットワークドライブ上の新しいディレクトリの名前で、スペースを使用できます。
このディレクトリは装置から見えます。
13. [**Enter**] を選択します。

14. 「`sudo gedit /etc/fstab`」 と入力し、**[Enter]** を選択します。
15. `fstab` ファイルが開いたら、ファイルの末尾に次の行を入力して **[Enter]** を選択します。

```
//<Server name>/<Share name> /mnt/<local name> cifs
credentials=/root/.smbcreds,uid=ilmnadmin,gid=ilmnusers,dir_
mode=0775,file_mode=0775,_netdev,x-systemd.automount,sec=ntlmssp 0 0
```

 NextSeq 1000/2000 Control Software v1.5.0 以降では、`/mnt/` パスは必須です。
16. **[Save]** を選択して、ファイルを閉じます。
17. ターミナルで「`sudo mount -a -vvv`」 と入力し、**[Enter]** を選択します。
 これで、ネットワークドライブが `/mnt/<local name>` としてマウントされます。
18. 正常にマウントされたかどうかを確認するため、「`df | grep <local name>`」 と入力して **[Enter]** を選択します。正常にマウントされていれば、ファイル共有名が表示されます。
19. 「`sudo mkdir /mnt/<local name>/<output directory>`」 と入力し、ローカルディレクトリ内にサブフォルダーを作成します。`<output directory>` が、デフォルト出力フォルダーの場所になります。
 この場所をマウントされたネットワークドライブとして装置に認識させるためには、少なくとも 2 階層分ネストしたフォルダーが必要です。
20. 装置を再起動します。96 ページの「[装置の再起動](#)」を参照してください。
21. 永続的にマウントされたネットワークドライブをデフォルト出力フォルダーとして設定します。30 ページの「[永続的ネットワークドライブをデフォルト出力フォルダーとして指定](#)」を参照してください。

NFS のマウント手順

1. NextSeq 1000/2000 Control Software が開いている場合は、**[Minimize Application]** を選択します。
2. `ilmnadmin` でログインします。
3. NFS サーバーのサーバー名を特定します。
 サーバー名にはスペースを使用できません。次に例を示します。
 サーバー名：192.168.500.100 または `Myserver-myinstitute-03`
4. **[Applications]** を選択します。
5. [Favorites] の下の **[Terminal]** を選択します。
6. 「`sudo mkdir /mnt/<local name>`」 と入力し、**[Enter]** を選択します。
`<local name>` はネットワークドライブ上の新しいディレクトリの名前です。
7. 「`sudo gedit /etc/fstab`」 と入力し、**[Enter]** を選択します。
8. `fstab` ファイルが開いたら、ファイルの末尾に次の行を入力して **[Enter]** を選択します。

```
Server name:/share /mnt/<local name> nfs x-systemd.automount,defaults 0 0
```

 NextSeq 1000/2000 Control Software v1.5.0 以降では、`/mnt/` パスは必須です。
9. **[Save]** を選択して、ファイルを閉じます。

10. ターミナルで「`sudo mount -a -vvv`」と入力し、**[Enter]** を選択します。
これで、ネットワークドライブが /mnt ディレクトリの <local name> フォルダとしてマウントされます。
11. <local name> フォルダ内に <sub folder> を作成します。このサブフォルダが、デフォルト出力フォルダの場所になります。
この場所をマウントされたネットワークドライブとして装置に認識させるためには、少なくとも 2 階層分ネストしたフォルダが必要です。
12. 装置を再起動します。96 ページの「[装置の再起動](#)」を参照してください。
13. 永続的にマウントされたネットワークドライブをデフォルト出力フォルダとして設定します。
30 ページの「[永続的ネットワークドライブをデフォルト出力フォルダとして指定](#)」を参照してください。

永続的ネットワークドライブをデフォルト出力フォルダとして指定

1. ilmnuser でログインします。
2. NextSeq 1000/2000 Control Software メニューから **[Settings]** を選択します。
3. [Default Output Folder] で、永続的にマウントされたネットワークドライブにある /mnt/<local name>/<output directory> を選択します。
4. (オプション) [Run Mode] で **[Online Run Setup]** を選択している場合、[Hosting Location] ドロップダウンメニューからオプションを選択します。
5. **[Save]** を選択します。

カスタムリファレンスゲノムのインポート

新しいカスタムリファレンスゲノムをインポートするには、管理者アカウントを使用する必要があります。適合するすべてのリファレンスゲノムの一覧については、NextSeq 1000/2000 の Compatible Products サポートサイトのページを参照してください。

1. Illumina Instruments BaseSpace Sequence Hub アプリ向け Reference Builder を使用して、リファレンスゲノムを作成します。詳細については、『Reference Builder for Illumina Instruments v1.0.0 App Online Help』を参照してください。
2. コントロールソフトウェアのメニューを選択し、**[Process Management]** を選択します。
3. シーケンスランや装置上の二次解析が進行中でないことを確認します。
4. コントロールソフトウェアのメニューから **[Minimize Application]** を選択します。
5. ilmnadmin でログインします。
6. コントロールソフトウェアのメニューを選択し、**[DRAGEN]** を選択します。
7. [Genome] セクションで **[View Installed Genomes]** を選択し、現在インストールされているすべてのイルミナゲノムとカスタムゲノムのリストを表示します。
8. ウィンドウを閉じます。
9. [Import New Reference Genomes] で、**[Choose]** を選択します。

10. ポータブルドライブまたはマウントされたネットワークドライブにあるリファレンスゲノムファイル (*.tar.gz) の場所に移動し、**[Open]** を選択します。
11. **[Import]** を選択します。

ノイズベースラインファイルのインポート

DRAGEN Enrichment ワークフローを体細胞モードで使用する場合、ノイズベースラインファイルを使用してシーケンスノイズやシステムのノイズを除去できます。[イルミナサポートサイト](#)から標準カスタムノイズファイルをダウンロードすることも、カスタムノイズベースラインファイルを作成することもできます。

カスタムノイズベースラインファイルの生成

体細胞モードを使用する場合、カスタムノイズベースラインファイルを生成できます。ノイズベースラインファイルは、サンプルが由来する対象と一致しない正常サンプルを使用して作成します。正常サンプルの推奨の数値は 50 です。

カスタムノイズベースラインファイルを生成するには、以下のいずれかの方法を使用します。

- DRAGEN Bio-IT Platform サーバーを使用します。手順については、『DRAGEN Bio-IT Platform Online Help』を参照してください。
- BaseSpace Sequence Hub で DRAGEN Baseline Builder アプリを使用します。

ユーザーインターフェースを使用したベースラインファイルのインポート

ベースラインファイルをインポートした後に、DRAGEN Enrichment ワークフローを体細胞モードで使用してシーケンスランをセットアップできます。

1. [イルミナサポートサイト](#)から標準ベースラインファイルをダウンロードするか、DRAGEN サーバーまたは DRAGEN Baseline Builder アプリからカスタムベースラインファイルをダウンロードします。
2. コントロールソフトウェアのメニューから **[Minimize Application]** を選択します。
3. ilmnadmin でログインします。
4. **[Places]** を選択し、**[Computer]** を選択します。
5. **usr** をダブルクリックしてから、**local** をダブルクリックします。
6. **illumina** をダブルクリックしてから、**aux_files** をダブルクリックします。
7. ノイズベースラインファイルを aux_files にドラッグします。

ターミナルを使用したベースラインファイルのインポート

ベースラインファイルをインポートした後に、DRAGEN Enrichment ワークフローを体細胞モードで使用してシーケンスランをセットアップできます。

1. [イルミナサポートサイト](#)から標準ベースラインファイルをダウンロードするか、DRAGEN サーバーまたは DRAGEN Baseline Builder アプリからカスタムベースラインファイルをダウンロードします。
2. コントロールソフトウェアのメニューから **[Minimize Application]** を選択します。
3. ilmnadmin でログインします。

4. **[Applications]** を選択します。
5. [Favorites] の下の **[Terminal]** を選択します。
6. 次のコマンドを入力します。

```
cp [/path/to/baselinefile] /usr/local/illumina/aux_files
```

CNV コーリング用の正常サンプルのパネルのインポート

DRAGEN Enrichment パイプラインで CNV コーリングを有効にしている場合は、正常サンプルのパネルが必要です。CNV コーラーはリファレンスベースのノーマライゼーションアルゴリズムであり、外部から提供された追加の正常サンプルと照合することで、CNV イベントをコールするためのベースラインレベルを決定します。照合対象となるこれらの正常サンプルは、当該ケースサンプルに使用するのと同じライブラリー調製およびシーケンスワークフローに由来するものである必要があります。サンプル特異的でないシステムレベルのバイアスは、アルゴリズムによって除去されます。

正常サンプルのパネルは、独自に構築するか、イルミナから提供されたものを使用できます（現時点で提供されているのは TruSight Hereditary Cancer Panel のみです）。

正常サンプルのパネルの生成

DRAGEN Baseline Builder BaseSpace アプリを使用します。このアプリは、FASTQ、BAM、または CRAM を入力として CNV 形式のベースラインファイル (*.combined.counts.txt.gz ファイル) を生成します。

ベースラインの構築には～ 50 サンプルを使用することを推奨します。

ユーザーインターフェースを使用した正常サンプルのパネルのインポート

1. [イルミナサポートサイト](#) から提供されている正常サンプルのパネルをダウンロードするか、DRAGEN Baseline Builder アプリから正常サンプルのカスタムパネルをダウンロードします。
2. コントロールソフトウェアのメニューから **[Minimize Application]** を選択します。
3. ilmnadmin でログインします。
4. **[Applications]** を選択し、**[Favorites]** を選択します。
5. **[+Other Locations]** を選択し、**[Computer]** を選択します。
6. **usr** をダブルクリックしてから、**local** をダブルクリックします。
7. **illumina** をダブルクリックしてから、**aux_files** をダブルクリックします。
8. 正常サンプルのパネルファイル (*.combined.counts.txt.gz ファイル) を aux_files にドラッグします。

ターミナルを使用した正常サンプルのパネルのインポート

1. [イルミナサポートサイト](#) から提供されている正常サンプルのパネルをダウンロードするか、DRAGEN Baseline Builder アプリから正常サンプルのカスタムパネルをダウンロードします。
2. コントロールソフトウェアのメニューから **[Minimize Application]** を選択します。
3. ilmnadmin でログインします。

4. **[Applications]** を選択します。
5. [Favorites] の下の **[Terminal]** を選択します。
6. 次のコマンドを入力します。

```
cp [/path/to/baselinefile] /usr/local/illumina/aux_file
```

ランモードの設定

ランモードはすべてのランに適用され、ランパラメーターが入力される場所およびデータの解析方法を規定します。

クラウドモードまたはハイブリッドモード

1. コントロールソフトウェアのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. [BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support] で **[Online Run Setup]** を選択します。
3. 以下の項目を適宜設定します。
 - a. **[Proactive and Run Monitoring]** または **[Proactive, Run Monitoring and Storage]**。
 - b. **[Hosting Location]** のドロップダウンメニュー。
 - c. (オプション) **[Private Domain Name]** にプライベートドメイン名を入力します。
4. **[Save]** を選択します。

ローカルモードまたはスタンドアロンモード

1. コントロールソフトウェアのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. [BaseSpace Sequence Hub Services & Proactive Support] で **[Local Run Setup]** を選択します。
3. 以下の項目を適宜設定します。
 - a. **[Proactive Support Only]**、**[Proactive and Run Monitoring]**、**[Proactive, Run Monitoring and Storage]**、または **[None]**。
i | BaseSpace Sequence Hub では、**[Proactive, Run Monitoring and Storage]** を選択した場合のみリキューが許可されます。このオプションを選択すると、サンプルシートが無効な場合に、サンプルシートを修正してデマルチプレックス解析をリキューすることができます。装置上のリキュー機能については、[95 ページの「ランのリキュー」](#)を参照してください。
 - b. **[Hosting Location]** のドロップダウンメニュー。
 - c. (オプション) **[Private Domain Name]** にプライベートドメイン名を入力します。
4. **[Save]** を選択します。

ローカルモードまたはスタンドアロンモードのサンプルシートに関する考慮事項

DRAGEN を使用して解析するには、サンプルシート v2 ファイル形式を使用する必要があります。サンプルシート v2 ファイル形式は、DRAGEN の機能を利用しない BaseSpace Sequence Hub アプリにも対応します。v2 ファイル形式でのサンプルシートの作成については、[オンライン上の Sample Sheet v2 のページ](#)を参照してください。

装置のカスタマイズ

このセクションでは、装置をカスタマイズするための設定について説明します。

装置に名前を付ける

1. コントロールソフトウェアのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. **[Instrument Nickname]** を選択し、装置の名前を入力します。
入力した名前は各画面の上部に表示されます。
3. **[Save]** を選択します。

変性および希釈に関する設定

1. コントロールソフトウェアのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. ライブラリーを装置上で自動的に変性して希釈するかどうかを選択します。前回のランで選択したオプションが既定値に設定されます。
 - ライブラリーを装置上で自動的に変性して希釈するには、**[Denature and Dilute On Board]** チェックボックスを選択します。
 - ライブラリーを手動で変性して希釈するには、**[Denature and Dilute On Board]** チェックボックスの選択を解除します。
ライブラリーを手動で変性して希釈する手順については、[53 ページの「手動での変性および希釈」](#)を参照してください。

試薬の自動パージに関する設定

1. コントロールソフトウェアのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. ラン完了後の試薬の廃液処理を効率化するため、各ランの終了後に未使用の試薬を使用済み試薬コンパートメントに自動的にパージするかどうかを選択します。
 - 自動的にパージするには、**[Purge Reagent Cartridge]** チェックボックスを選択します。
 - 自動パージを省略するには、**[Purge Reagent Cartridge]** チェックボックスの選択を解除します（これがデフォルト設定です）。

未使用の試薬をパージすると、ワークフローが最大で 2 時間長くなります。

3. **[Save]** を選択します。

ソフトウェアアップデートの設定

1. コントロールソフトウェアのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. ソフトウェアアップデートの有無を自動的に確認するかどうかを選択します。
 - 自動的に確認するには、**[Autocheck for software updates]** チェックボックスを選択します。
 - 手動で確認するには、**[Autocheck for software updates]** チェックボックスの選択を解除します。ソフトウェアアップデートの自動確認にはインターネット接続が必要です。ソフトウェアアップデートのインストールの詳細については、[88 ページの「ソフトウェアのアップデート」](#)を参照してください。
3. **[Save]** を選択します。

LCD の明るさの変更

1. コントロールソフトウェアのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. **[LCD Brightness]** スライダーを動かして目的のパーセンテージに設定します。
3. **[Save]** を選択します。

プロキシサーバーの設定

プロキシサーバーは、NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 以降でのみサポートされます。

1. コントロールソフトウェアのメニューから **[Settings]** を選択します。
2. 現在のプロキシ設定を選択して **[Proxy Settings]** 画面を開きます。
3. **[Enable Proxy]** チェックボックスを選択し、サーバーの IP ポートアドレスを入力します。
4. (オプション) プロキシサーバーに認証が必要な場合、**[Requires Username and Password]** チェックボックスを選択して、ユーザー名とパスワードを入力します。
5. **[Save]** を選択し、プロキシの情報を保存して検証します。
6. 以下のいずれかの方法を選択します。
 - システムを再起動して新しいプロキシ設定を適用するには、**[Yes, I'm Finished]** を選択します。
 - **[Settings]** 画面に戻るには、**[No, Take Me Back]** を選択します。新しいプロキシ設定は保存されますが、システムを再起動するまで適用されません。

カスタムプライマー

NextSeq 1000/2000 システムでのランにカスタムプライマーを使用するには、ランセットアップ中に次の追加ステップが必要です。

- 各カスタムプライマーを適量調製し、試薬カートリッジのカスタムプライマー位置に添加します。
- ランセットアップ中にコントロールソフトウェアでカスタムプライマーを選択します。

他のすべてのステップについては、[33 ページの「ランモードの設定」](#)に記載されているランセットアップのワークフローに従います。

NextSeq 1000/2000 P2 Reagents (v2) kits でカスタムプライマーを使用するには、カスタムレシピを使用する必要があります。NextSeq 1000/2000 サポートサイトページからカスタムレシピをダウンロードしてください。他のすべての NextSeq 1000/2000 Reagents kits (NextSeq 1000/2000 Reagents (v3) kits を含む) では、カスタムプライマーを使用する際にカスタムレシピは必要ありません。

NextSeq 1000/2000 では、カスタムウェルごとに最大 2 種類のカスタムリードプライマーまたはカスタムインデックスプライマーを使用できます。使用できるカスタムプライマーウェルは 2 つあります。

使用するライブラリー調製キットに応じて、イルミナプライマーミックスの使用が必要になる場合があります。詳細については、[36 ページの「VP10 および VP14 カスタムプライマー」](#)を参照してください。

イルミナは、カスタムプライマーの性能や適合性を保証しません。NextSeq 1000/2000 システムでのシーケンスに使用するカスタムプライマーの検証は、ユーザーの責任で行ってください。

カスタムプライマーおよび PhiX

ランセットアップ中にコントロールソフトウェアでカスタムプライマーを選択すると、カスタム 1 およびカスタム 2 ウェルから試薬が吸い上げられます。イルミナプライマーは、シーケンスラン中にリードやインデックスで使用されません。イルミナプライマーとは、すでに試薬カートリッジウェルにあるプライマーを指します。

PhiX コントロールをシーケンスするには、標準のイルミナプライマーが必要です。イルミナプライマーが Read 1 および Read 2 で使用されない場合、オプションの PhiX コントロールはシーケンスされません。カスタムプライマーの使用時に PhiX やその他のイルミナライブラリーをプライミングできるようにするには、別売りのイルミナプライマーを購入する必要があります。詳細については、[37 ページの「カスタムプライマーの調製と添加」](#)のセクションを参照してください。

i | PhiX はインデックス化されていないため、どのインデックスプライマーを使用する場合でも、インデックスリードに対して PhiX コントロールのシーケンスデータは生成されません。

VP10 および VP14 カスタムプライマー

使用するライブラリー調製キットで VP10 Custom Read 1 Primer または VP14 Custom Index 2 Primer が必要な場合は、[38 ページの「試薬カートリッジへのカスタムプライマーの添加」](#)に進みます。VP10 および VP14 カスタムプライマーは適切な作用濃度で提供されており、調製する必要はありません。

使用するライブラリー調製キットで VP10 または VP14 カスタムプライマーが必要かどうかを確認するには、[イルミナサポートサイト](#)で、使用するライブラリー調製キットの Compatible Products ページを参照してください。

カスタムプライマーの調製と添加

カスタムプライマーは、HT1 を使用して希釈してから、NextSeq 1000/2000 試薬カートリッジのカスタムウェルに添加します。先に進む前に、試薬カートリッジが融解および点検済みであることを確認します。

PhiX またはイルミナライブラリーと一緒にカスタムまたはサードパーティーライブラリーを使用する場合は、HP21 にカスタムリードプライマーを、また、BP14 にカスタムインデックスプライマーを添加して、調製します。

HT1、HP21、および BP14 は、NextSeq 1000/2000 プライマーキットに含まれています。各キット構成に含まれる試薬は同一ではありません。HT1 は、NextSeq 1000/2000 シーケンス試薬キットには含まれておらず、単独の試薬として販売されています。使用するライブラリーに適切なキットオプションを確認するには、[39 ページの「キット構成」](#)を参照してください。

カスタムリードプライマーの調製

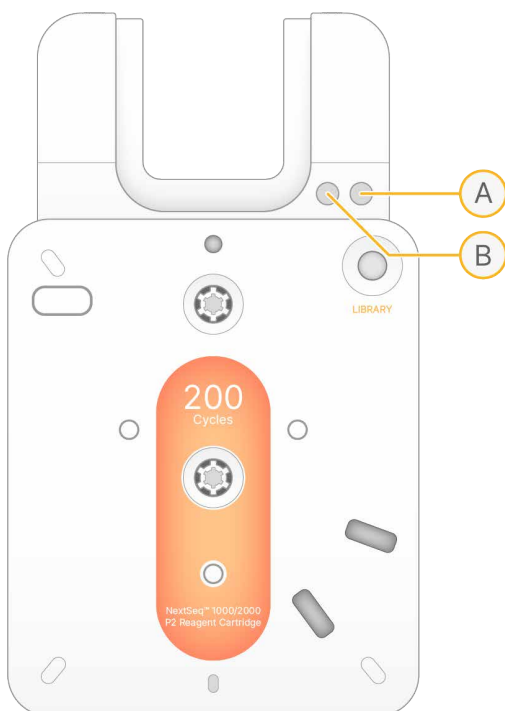
ほとんどのタイプのカスタムライブラリーでは、リードプライマーをまとめて1つのカスタムプライマーウェルにプールし、インデックスプライマーをまとめて別のカスタムプライマーウェルにプールします。リードプライマーとインデックスプライマーを混合することは、量の制約の理由から推奨されません。

以下の手順で使用するカスタムプライマーの量は、カスタムプライマーのストック濃度によって異なります。

1. 凍結している場合、使用する各カスタムプライマーを融解します。
2. カスタムライブラリーまたはサードパーティーライブラリーのみを使用する場合は、次のようにカスタムリードプライマーまたはカスタムインデックスプライマーを調製します。
 - HT1 を使用してカスタムリードプライマーミックスを希釈し、総量が 600 μ L、各カスタムリードプライマーの最終濃度が 0.3 μ M になるように調製します。
 - HT1 を使用してカスタムインデックスプライマーミックスを希釈し、総量が 600 μ L、各カスタムインデックスプライマーの最終濃度が 0.6 μ M になるように調製します。
3. PhiX またはイルミナライブラリーと一緒にカスタムまたはサードパーティーライブラリーを使用する場合は、次のようにカスタムリードプライマーまたはカスタムインデックスプライマーを調製します。
 - 各カスタムリードプライマーミックスを 600 μ L の HP21 に添加し、最終濃度 0.3 μ M に調製します。
 - 各カスタムインデックスプライマーミックスを 600 μ L の BP14 に添加し、最終濃度 0.6 μ M に調製します。

試薬カートリッジへのカスタムプライマーの添加

1. 清潔なピペットチップを使用して、カスタム 1 ウェルまたはカスタム 2 ウェルを覆っているホイルシートに必要な応じて穴を開けます。



- A. ウェル 1
- B. ウェル 2

2. 550 μ L のカスタムプライマーミックスを試薬カートリッジのカスタム 1 ウェルまたはカスタム 2 ウェルに添加します。両方のウェルを使用する場合は、550 μ L のカスタムプライマーミックスを 2 番目のウェルに添加します。
こぼれ、気泡、クロスコンタミネーションを避けるために、液体をゆっくりと分注します。
3. 1 時間以内にシーケンスランを開始します。カートリッジをシステム内に保管すると、カスタムプライマーミックスが蒸発する原因になります。

カスタムプライマーのランセットアップ

ランのセットアップの詳細については、[33 ページの「ランモードの設定」](#)を参照してください。

1. NextSeq 1000/2000 Control Software のランセットアップにおいて、各リードおよびインデックスに対して次のいずれかのオプションを選択します。
 - **No** : イルミナプライマーを使用します。[No] はデフォルト設定です。
 - **Custom 1** : カスタム 1 ウェルに添加したプライマーを使用します。
 - **Custom 2** : カスタム 2 ウェルに添加したプライマーを使用します。
2. ランパラメーターの設定が完了したら、**[Prep]** を選択します。

キット構成

以下に、NextSeq 1000/2000 カスタムプライマーで利用可能なキット構成を示します。キットの中身は -25℃～ -15℃で保管してください。

キット名	カタログ番号
NextSeq 1000/2000 Read & Index Primers	20046115
NextSeq 1000/2000 Index Primer Kit	20046116
NextSeq 1000/2000 Read Primer Kit	20046117
HT1 Hybridization Buffer	20015892

NextSeq 1000/2000 Read & Index Primers

数量	略語	試薬名	キャップ色
1	BP14	BP14 index primer mix	黄色
1	HP21	HP21 read primer mix	青色
2	HT1	Hybridization Buffer 1	透明

NextSeq 1000/2000 Index Primer Kit

数量	略語	試薬名	キャップ色
10	BP14	BP14 index primer mix	黄色
10	HT1	Hybridization Buffer 1	透明

NextSeq 1000/2000 Read Primer Kit

数量	略語	試薬名	キャップ色
10	HP21	HP21 read primer mix	青色
10	HT1	Hybridization Buffer 1	透明

HT1 Hybridization Buffer

数量	略語	試薬名	キャップ色
1	HT1	Hybridization Buffer 1	赤色

消耗品および機器

このセクションでは、試薬キットに付属するすべてのアイテムとその保管条件を示します。さらに、プロトコールの実施とメンテナンスおよびトラブルシューティングに必要な補助的な消耗品と機器についても説明します。

シーケンス消耗品

NextSeq 1000/2000 でシーケンスを実行するには、使い捨ての Illumina NextSeq 1000/2000 P1 Reagents kit、使い捨ての Illumina NextSeq 1000/2000 P2 Reagents kit、または使い捨ての Illumina NextSeq 2000 P3 Reagents kit が 1 つ必要です。NextSeq 1000/2000 P1 Reagents kit には 3 種類の構成（100 サイクル、300 サイクル、600 サイクル）、NextSeq 1000/2000 P2 Reagents kit には 4 種類の構成（100 サイクル、200 サイクル、300 サイクル、600 サイクル）が用意されています。NextSeq 2000 P3 Reagents kit には 4 種類の構成（50 サイクル、100 サイクル、200 サイクル、300 サイクル）が用意されています。

NextSeq 2000 P3 Reagents kit は、NextSeq 2000 システムにのみ対応しています。試薬キットには、シーケンス用のカートリッジとフローセルが含まれています。試薬キットが届いたら、以下のことに注意してください。

- 適切な性能を確保するため、キット構成を表記されている温度ですぐに保管します。
- 指示があるまで銀色のホイルバッグを開けないでください。
- ホイルバッグが破れたり穴が開いたりしないように、カートリッジは箱に入れたまま保管します。
- カートリッジを保管する際は矢印を上に向けて置きます。

! | カートリッジのラベルを上に向けないと、シーケンスデータに悪影響が及びます。

表 4 キット構成

消耗品	数量	保管温度	寸法
カートリッジ	1	-25°C ~ -15°C	100 サイクル、200 サイクル、または 300 サイクルのカートリッジ： 29.2 cm × 17.8 cm × 12.7 cm (11.5 インチ × 7 インチ × 5 インチ) 600 サイクルのカートリッジ： 33.2 cm × 17.8 cm × 12.7 cm (13.1 インチ × 7 インチ × 5 インチ)
フローセル	1	2°C ~ 8°C *	21.6 cm × 12.7 cm × 1.9 cm (8.5 インチ × 5 インチ × 0.75 インチ)
RSB with Tween 20*	1	2°C ~ 8°C	4 cm × 6.6 cm × 5 cm (1.6 インチ × 2.6 インチ × 2 インチ)

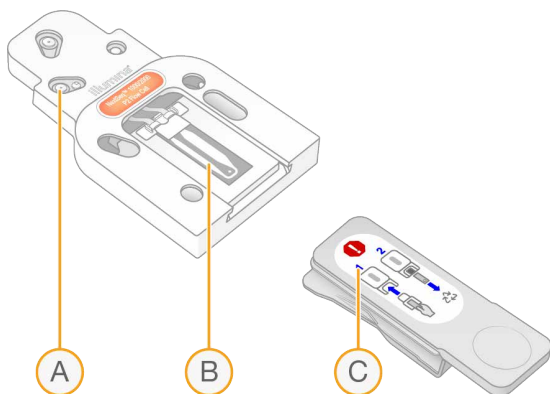
* 室温で配送されます。

どちらの消耗品にも、追跡および適合性確認用の識別子が付いています。カートリッジとフローセルには RFID¹ が使用されています。

¹ 無線自動識別

フローセル

フローセルはシングルレーンのパターン化フローセルです。ガラス製のフローセルがプラスチックのカートリッジに入っています。安全に取り扱えるように、フローセルはグレーのつまみで覆われており、このつまみがフローセルから突き出ています。

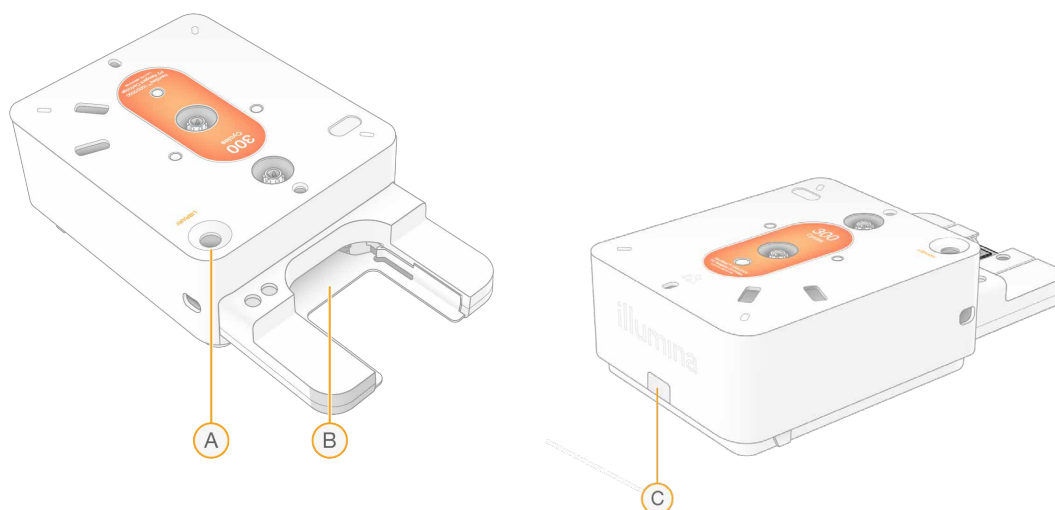


- A. プラスチックカートリッジ
- B. フローセル
- C. グレーのつまみ

フローセルの内側表面は数百万個のナノウェルで覆われています。これらのナノウェル内でクラスターが形成された後、シーケンス反応が実行されます。ナノウェルが整列して配置されていることで、出力されるリード数とデータが増加しています。

カートリッジ

シーケンス試薬カートリッジには、クラスター試薬、シーケンス試薬、ペアエンド試薬、インデックス試薬があらかじめ充填されています。ホイルでシールされたリザーバーはライブラリー専用で、前面にフローセルを差し込むスロットが付いています。



- A. ライブラリーリザーバー
- B. フローセルスロット
- C. 排液プラグ

カートリッジには、ランに必要なすべての消耗品（試薬、ライブラリー、フローセル）が含まれています。融解したカートリッジにライブラリーとフローセルをロードした後、カートリッジを装置にロードします。ランの開始後、試薬とライブラリーは自動的にカートリッジからフローセルに移送されます。

カートリッジには、ポンプとバルブ、およびシステム用のすべてのフルイデックス（使用済み試薬を回収するための下面のリザーバーなど）が含まれています。カートリッジはラン後に廃棄するため、装置洗浄は必要ありません。

サポートされるサイクル数

カートリッジのラベルに記載されている数字は、解析可能なサイクル数を示します。実行可能なサイクル数ではありません。フローセルはすべてのサイクル数とすべてのリードタイプに対応しています。



Illumina NextSeq 2000 P3 Reagents kit の 300 サイクルのカートリッジには、27 サイクル分の試薬が追加で含まれています。これを除くすべてのカートリッジには、38 サイクル分の試薬が追加で含まれています。例えば、Illumina NextSeq 1000/2000 P2 Reagents kit の 200 サイクルのカートリッジには、最大 238 サイクルのシーケンスを実行できる量の試薬が入っています。

シーケンスのサイクル数については、[49 ページの「リードのサイクル数」](#)を参照してください。

記号の説明

次の表に、消耗品または消耗品のパッケージに付いている記号を示します。

記号	内容説明
	消耗品の使用期限。最良の結果を得るには、この日付以前の消耗品を使用してください。
	製造者（イルミナ）を示します。
	使用目的は研究に限定されます（RUO）。
	消耗品を識別するための部品番号を示します。
	消耗品が製造されたバッチまたはロットを特定するためのバッチコードを示します。

記号	内容説明
	健康に有害であることを示します。
	保管温度範囲（摂氏）。表記された範囲内で消耗品を保管してください。

補助的な消耗品

シーケンスとメンテナンス用に以下の消耗品を購入してください。

シーケンス用の消耗品

表 5 シーケンス用の消耗品

消耗品	サプライヤー	目的
パウダーフリーの使い捨て手袋	一般的なラボ用品サプライヤー	一般的な用途。
NextSeq 1000/2000 P1 Reagents kit	イルミナ： カタログ番号：20074933 (100 サイクル) カタログ番号：20050264 (300 サイクル) カタログ番号：20075294 (600 サイクル)	シーケンスとデュアルインデックスをサポートするための試薬をキットとして提供します（最大 1 億のシングルリード）。 NextSeq 1000/2000 試薬カートリッジ、NextSeq 1000/2000 P1 フローセル、および RSB with Tween 20 が含まれます。 この試薬キットは v3 の試薬に基づいています。 NextSeq 1000/2000 に適合します。

消耗品	サプライヤー	目的
NextSeq 1000/2000 P2 Reagents (v3) kit	イルミナ： カタログ番号：20046811 (100 サイクル) カタログ番号：20046812 (200 サイクル) カタログ番号：20046813 (300 サイクル) カタログ番号：20075295 (600 サイクル)	シーケンスとデュアルインデックスをサポートするための試薬をキットとして提供します。シングルリードの数は次のとおりです。 <ul style="list-style-type: none"> 100 サイクル、200 サイクル、および 300 サイクルのキットでは、最大 4 億のシングルリード 600 サイクルのキットでは、最大 3 億のシングルリード NextSeq 1000/2000 試薬カートリッジ、NextSeq 1000/2000 P2 フローセル、および RSB with Tween 20 が含まれます。NextSeq 1000/2000 に適合します。
NextSeq 2000 P3 Reagents kit	イルミナ： カタログ番号：20046810 (50 サイクル) カタログ番号：20040559 (100 サイクル) カタログ番号：20040560 (200 サイクル) カタログ番号：20040561 (300 サイクル)	シーケンスとデュアルインデックスをサポートするための試薬をキットとして提供します (最大 12 億のシングルリード)。 NextSeq 2000 試薬カートリッジ、NextSeq 2000 P3 フローセル、および RSB with Tween 20 が含まれます。 この試薬キットは v3 の試薬に基づいています。NextSeq 2000 にのみ適合します。
1.5 mL マイクロ遠心チューブ	Fisher Scientific、カタログ番号：14-222-158 または同等の低吸着チューブ	ローディング濃度へのライブラリーの希釈。
ピペットチップ、10 µL	一般的なラボ用品サプライヤー	ライブラリーの希釈。
ピペットチップ、20 µL	一般的なラボ用品サプライヤー	ライブラリーの希釈およびローディング。
ピペットチップ、200 µL	一般的なラボ用品サプライヤー	ライブラリーの希釈。
ピペットチップ、1000 µL	一般的なラボ用品サプライヤー	ライブラリーリザーバーホイルの穴開け。
(オプション) PhiX Control v3	イルミナ、カタログ番号：FC-110-3001	PhiX のみのランを行うか PhiX コントロールのスパイクイン用。
(オプション) ペーパータオル	一般的なラボ用品サプライヤー	ウォーターバス使用後のカートリッジの拭き取り。

メンテナンス用の消耗品

表 6 メンテナンス用の消耗品

消耗品	サプライヤー	目的
パウダーフリーの使い捨て手袋	一般的なラボ用品サプライヤー	一般的な用途。
交換用 NextSeq 1000/2000 エアフィルター *	イルミナ、カタログ番号：20029759	6 か月ごとのエアフィルター交換用。

* 1つは装置に装着されており、もう1つは予備として装置に付属しています。エアフィルターは、装置保証および装置サービス契約の対象です。保守外の場合、交換品はユーザーが用意します。使用するまでパッケージから出さないでください。

手動での変性および希釈用の消耗品（オプション）

ライブラリーを手動で変性して希釈するには、以下の消耗品が必要です。

表 7 手動での変性および希釈用の消耗品

消耗品	サプライヤー
1 N NaOH	一般的なラボ用品サプライヤー
400 mM Tris-HCl, pH 8.0	一般的なラボ用品サプライヤー
HT1 (Hybridization Buffer)	イルミナ、カタログ番号：20015892 イルミナ、NextSeq 1000/2000 カスタムプライマーキットで提供
パウダーフリーの使い捨て手袋	一般的なラボ用品サプライヤー
ラボラトリーグレード水	一般的なラボ用品サプライヤー
(オプション) PhiX Control v3	イルミナ、カタログ番号：FC-110-3001

ライブラリーおよび PhiX の変性と希釈に使用する以下の消耗品は、NextSeq 1000/2000 Reagents kit およびイルミナライブラリー調製キットで提供されています。

消耗品	キット名
NextSeq 1000/2000 RSB with Tween 20	イルミナ、NextSeq 1000/2000 Reagents kit で提供（NextSeq 1000/2000 P2 (v2) Reagents kit は除く）
1.5 mL マイクロ遠心チューブ	VWR、カタログ番号：20170-038、または同等品

調製済みライブラリーを NextSeq 1000/2000 でシーケンスするために手動で変性して希釈する方法については、[53 ページの「手動での変性および希釈」](#)を参照してください。

補助的な機器

シーケンス用の機器

シーケンス用に以下の機器を購入してください。

表 8 シーケンス用の機器

アイテム	ソース	目的
冷凍庫、-25℃～-15℃	一般的なラボ用品サプライヤー	カートリッジの保管。
遠心機	一般的なラボ用品サプライヤー	ローディング濃度へのライブラリーの希釈。
アイスバケット	一般的なラボ用品サプライヤー	シーケンスまでのライブラリー保管。
ピペット、10 μL	一般的なラボ用品サプライヤー	ローディング濃度へのライブラリーの希釈。
ピペット、20 μL	一般的なラボ用品サプライヤー	ローディング濃度へのライブラリーの希釈と、ライブラリーのカートリッジへのロード。
ピペット、200 μL	一般的なラボ用品サプライヤー	ローディング濃度へのライブラリーの希釈。
冷蔵庫、2℃～8℃	一般的なラボ用品サプライヤー	フローセルの保管またはカートリッジの融解。
ボルテックス	一般的なラボ用品サプライヤー	ローディング濃度へのライブラリーの希釈。
(オプション) 25℃を保持できる、以下の温調されたウォーターバスのいずれかまたは同等品	<ul style="list-style-type: none"> • Thermo Fisher Scientific、カタログ番号：TSCIR 35 • Shel Lab、カタログ番号：SWBC22 	カートリッジの融解。
<ul style="list-style-type: none"> • Thermo Scientific Precision 35L 循環式ウォーターバス（同時に5カートリッジを保持） • SHEL LAB 22L デジタル循環式ウォーターバス（同時に3カートリッジを保持） 		

手動での変性および希釈用の機器（オプション）

すでにノーマライズされているライブラリーを変性させるには、以下の機器を使用します。

表 9 手動での変性および希釈用の機器

機器	サプライヤー
遠心機	一般的なラボ用品サプライヤー
ボルテックス	一般的なラボ用品サプライヤー

調製済みライブラリーを NextSeq 1000/2000 でシーケンスするために手動で変性して希釈する方法については、[53 ページの「手動での変性および希釈」](#)を参照してください。

シーケンスプロトコール

このセクションでは、消耗品の準備方法、ライブラリーの希釈方法、および 4 種類のランモード（クラウド、ハイブリッド、ローカル、スタンドアロン）のいずれかでシーケンスランをセットアップする方法の手順を具体的に説明します。クラウド、ハイブリッド、およびローカルモードでは DRAGEN または BaseSpace Sequencing Hub アプリを使用するのに対し、スタンドアロンモードは、CBCL データの生成のみを目的としたカスタム解析ワークフロー専用のスタンドアロンランです。

試薬およびその他の化学薬品を取り扱うときは、保護メガネ、ラボコートおよびパウダーフリーの手袋を装着してください。プロトコールを開始する前に必要な消耗品および機器が揃っていることを確認してください。[40 ページの「消耗品および機器」](#)を参照してください。

指定の量、温度、および所要時間に従い、記載された順序でプロトコールを実施してください。

シーケンスに関する考慮事項

プロトコールを開始する前に、以下の情報に従ってライブラリーの希釈とランのセットアップを準備します。シーケンスと解析を正しく行うには、ローディング濃度を最適にすることが重要です。リードのサイクル数を適切に入力することで、最適なデータ出力が得られます。

ローディング量とローディング濃度

ローディング量は 20 μ L です。ローディング濃度はライブラリーのタイプによって異なります。

ライブラリータイプ	ローディング濃度 (pM)
AmpliSeq™ for Illumina Library PLUS	750
Illumina DNA Prep	750
Illumina DNA Prep with Enrichment	1000
Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment	1000
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750
Illumina Stranded mRNA Prep	750
Illumina DNA PCR-Free	1000
TruSeq™ DNA Nano 350	1200
TruSeq™ DNA Nano 550	1500
TruSeq™ Stranded mRNA	1000
100% PhiX	650

その他のライブラリータイプの推奨される開始ローディング濃度は、650 pM です。その後、ランの実行を通じてこの濃度を最適化し、仕様を満たすデータを一貫して産生するローディング濃度を決定してください。

i | ローディング濃度を最適化するには、ランの完了後に生成された `PrimaryAnalysisMetrics.csv` 出力ファイルを開いて、% Loading Concentration のメトリクスを確認します。% Loading Concentration が 95% 未満の場合は、後続のランでローディング濃度を 100 pM ずつ増やします。

リードのサイクル数

各リードに対して入力するサイクル数を 26～301 サイクルの範囲にすると、データ品質の確保に役立ちます。適切なサイクル数は実験に応じて異なります。Read 1 には少なくとも 1 サイクルが必要ですが、Read 1 のサイクル数が 26 未満の場合は警告が表示されます。

Read 1、Index 1、Index 2、Read 2 のサイクル数の合計は、キットでサポートされているサイクル数に 38 (100 サイクル、200 サイクル、および 600 サイクルのキットの場合) または 27 (P3 の 300 サイクルのキットの場合) を足した数より大きくすることはできません。Index 1 および Index 2 のサイクル数が 6 サイクルより少ない場合は、警告が表示されます。ただし、Index 1 または Index 2 が 0 サイクルの場合、警告は表示されません。

最小および最大サイクル数には、余剰の 1 サイクルが含まれます。フェージングとプレフェージングの影響を補正するため、必ず目的のリード長に 1 サイクルを加えてください。リード長とは、Read 1 と Read 2 のシーケンスサイクル数のことです。リード長には余剰のサイクルとインデックスサイクルは含まれません。詳細については、[73 ページの「Real-Time Analysis のワークフロー」](#)の「フェージングの補正」を参照してください。

ランセットアップの例：

- リード長が 35 (シングルリード) の場合は、[Read 1] フィールドに「**36**」と入力します。
- リード長が 1 リードあたり 150 (ペアエンド) の場合は、[Read 1] フィールドに「**151**」、[Read 2] フィールドに「**151**」と入力します。
- リード長が 1 リードあたり 300 (ペアエンド) の場合は、[Read 1] フィールドに「**301**」、[Read 2] フィールドに「**301**」と入力します。

袋入りカートリッジの融解

このステップでは、温調ウォーターバス、冷蔵庫、室温のいずれかの方法を使用して、**未開封の袋**に入っているカートリッジを融解します。融解後のカートリッジは、再凍結せずに速やかに使用してください。融解したカートリッジをすぐに使用できない場合は、[94 ページの「消耗品を保管庫に戻す」](#)を参照してください。

図 4 袋入りカートリッジ



温調ウォーターバスでの融解

1. 新しいパウダフリーの手袋をつけ、保管庫からカートリッジを取り出します。
2. 箱からカートリッジを取り出しますが、**銀色のホイルバッグは開けないでください。**
 - ❗ 破れた袋や穴が開いた袋をウォーターバスで融解すると、シーケンスの失敗につながる可能性があります。その場合は室温または冷蔵庫で融解してください。
3. 袋入りのカートリッジを 25°C の温調ウォーターバスに入れ、以下のように融解します。
 - P1、P2、または P3 Reagents kit (100 サイクル、200 サイクル、または 300 サイクル) の場合は、6 時間かけて融解します。ウォーターバスに入れる時間は、8 時間を超えないようにしてください。
 - P1 または P2 Reagents kit (600 サイクル) の場合は、8 時間かけて融解します。ウォーターバスに入れる時間は、10 時間を超えないようにしてください。
 - 融解するカートリッジの数に関係なく、水深は少なくとも 9.5 ~ 10 cm に維持します。
 - 温調ウォーターバスは 25°C に設定します。
 - 袋のラベルを上に向けてウォーターバスに入れます。水中に完全に沈めないでください。
 - ❗ カートリッジを沈めるためにおもりを載せたりしないでください。袋のラベルが上を向いていない場合、または融解中にカートリッジが裏返しになった場合は、シーケンスデータに悪影響が及びます。
 - ウォーターバスでサポートされている数を超えるカートリッジを同時に融解しないでください。[46 ページの「補助的な機器」](#)を参照してください。
 - カートリッジを重ね置きしないでください。
4. カートリッジをウォーターバスから取り出し、ペーパータオルで水分を拭き取ります。

冷蔵庫での融解

1. 新しいパウダフリーの手袋をつけます。
2. 予定されているランの前日に、-25°C ~ -15°C の保管庫からカートリッジを取り出します。
3. 箱からカートリッジを取り出しますが、**銀色のホイルバッグは開けないでください。**
4. カートリッジを室温にさらします。その際、ラベルを上に向けて置き、側面と上部を空気が循環するようにします。
 - ❗ 袋のラベルを上に向けないと、シーケンスデータに悪影響が及びます。
5. 室温で 6 時間融解します。
6. カートリッジを 2°C ~ 8°C の冷蔵庫に入れます。その際、ラベルを上に向けて側面を空気が循環するようにします。
 - ❗ 袋のラベルを上に向けないと、シーケンスデータに悪影響が及びます。

7. 冷蔵庫で以下のように融解します。

- P1、P2、または P3 Reagents kit (100 サイクル、200 サイクル、または 300 サイクル) の場合は、12 時間かけて融解します。72 時間を超えないようにしてください。
- P1 または P2 Reagents kit (600 サイクル) の場合は、16 時間かけて融解します。72 時間を超えないようにしてください。

室温での融解

1. 新しいパウダーフリーの手袋をつけます。

2. -25°C ~ -15°C の保管庫からカートリッジを取り出します。

3. 箱からカートリッジを取り出しますが、**銀色のホイルバッグは開けないでください。**

4. ラベルを上に向けてカートリッジを置き、側面と上部を空気が循環するようにします。

! | 袋のラベルを上に向けないと、シーケンスデータに悪影響が及びます。

5. 室温で以下のように融解します。

- P1、P2、または P3 Reagents kit (100 サイクル、200 サイクル、または 300 サイクル) の場合は、9 時間かけて融解します。16 時間を超えないようにしてください。
- P1 または P2 Reagents kit (600 サイクル) の場合は、12 時間かけて融解します。16 時間を超えないようにしてください。

装置上での変性および希釈

装置上で変性して希釈する場合は、このステップでライブラリーを適切なローディング濃度に希釈します。オプションの 2% PhiX¹ を添加すると、追加のメトリクス、塩基多様性、またはポジティブコントロールが得られます。塩基の多様性が低いライブラリーでは、PhiX の添加割合を増加させる必要があります。

ライブラリーを手動で変性して希釈する場合は、[53 ページの「手動での変性および希釈」](#) を参照してください。このステップは、装置上で変性して希釈する場合にのみ適用されます。

ライブラリーを 2 nM に希釈

1. (オプション) -25°C ~ -15°C の保管庫から 10 nM PhiX ストックを取り出します。

PhiX が必要となるのは、オプションで添加する場合または PhiX のみのランを実行する場合だけです。

2. (オプション) PhiX を室温で 5 分融解した後、Qubit などの蛍光ベースの方法で定量して PhiX の濃度を確認します。

定量できない場合は、10 nM の濃度で進めます。

3. ライブラリーまたは PhiX を軽くボルテックスしてから、 $280 \times g$ で 1 分間遠心します。

4. 付属の RSB with Tween 20 を希釈溶液として使用し、低吸着マイクロ遠心チューブに 24 μL 以上の 2 nM ライブラリーを調製します。

PhiX の添加手順については、[53 ページの「PhiX コントロールの添加 \(オプション\)」](#) を参照してください。

5. 軽くボルテックスしてから、 $280 \times g$ で 1 分間遠心します。

¹PhiX はゲノムサイズが小さい調製済みのイルミナライブラリーであり、バランスの取れた塩基の存在比を示します。

2 nM ライブラリーをローディング濃度に希釈

1. 低吸着マイクロ遠心チューブに以下の量を加えて、適切なローディング濃度に希釈した 24 μL のライブラリーを調製します。

ライブラリータイプ *	ローディング濃度 (pM)	2 nM ライブラリーの量 (μL)	RSB with Tween 20 の量 (μL)
AmpliSeq for Illumina Library PLUS	750	9	15
Illumina DNA Prep	750	9	15
Illumina DNA Prep with Enrichment	1000	12	12
Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment	1000	12	12
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	750	9	15
Illumina Stranded mRNA Prep	750	9	15
Illumina DNA PCR-Free	1000	12	12
TruSeq DNA Nano 350	1200	14.4	9.6
TruSeq DNA Nano 550	1500	18	6
TruSeq Stranded mRNA	1000	12	12
100% PhiX	650	7.8	16.2

* リストにないライブラリータイプの場合、ローディング濃度を 650 pM から開始し、後続のランで最適化します。この表に示すのは、ローディング濃度の一例です。NextSeq 1000/2000 はイルミナの全ライブラリー調製キットに対応していますが、最適なローディング濃度は一定ではありません。

2. 軽くボルテックスしてから、 $280 \times g$ で 1 分間遠心します。
3. シーケンスの準備ができるまで、希釈済みライブラリーを氷上に置いておきます。ローディング濃度に希釈したライブラリーは、希釈したその日にシーケンスしてください。
4. 次のステップは以下のとおりです。
 - PhiX を添加する場合は、[53 ページの「PhiX コントロールの添加 \(オプション\)」](#) を参照してください。
 - PhiX を添加しない場合、または PhiX のみのランを実行する場合は、[56 ページの「消耗品のカートリッジへのロード」](#) を参照してください。

PhiX コントロールの添加（オプション）

1. PhiX を、最終ローディング濃度に希釈したライブラリーと同じ濃度に調製します。例えば、低吸着マイクロ遠心チューブに以下の量を加えて 20 μL の PhiX を調製します。

ローディング濃度 (pM)	10nM PhiX の量 (μL)	RSB with Tween 20 の量 (μL)
750	1.5	18.5
1000	2	18
1500	3	17

2. 低吸着マイクロ遠心チューブに以下の量を加えて、20 μL の 1 nM PhiX を調製します。
 - 10 nM PhiX (2 μL)
 - RSB with Tween 20 (18 μL)
3. 軽くボルテックスしてから、280 \times g で 1 分間遠心します。
4. 1 μL の 1 nM PhiX を、最終ローディング濃度に希釈した 24 μL のライブラリーに加えます。実際のパーセンテージはライブラリーの品質と量によって異なります。
5. シーケンスの準備ができるまで、PhiX を添加したライブラリーを氷上に置いておきます。PhiX を添加したライブラリーは、希釈したその日にシーケンスしてください。

手動での変性および希釈

このセクションでは、調製済みライブラリーを NextSeq 1000/2000 システムでシーケンスするために手動で変性して希釈する方法について説明します。手動での変性と希釈は、[48 ページの「ローディング量とローディング濃度」](#) に示す推奨ローディング濃度およびローディング量を達成できない低濃度ライブラリーに推奨されます。

NextSeq 1000/2000 Control Software でランを開始するときに、[Denature and Dilute On Board] チェックボックスが選択されていないことを確認します。ランのセットアップの詳細については、[33 ページの「ランモードの設定」](#) を参照してください。

装置上での変性および希釈を使用する場合は、[51 ページの「装置上での変性および希釈」](#) を参照してください。このステップは、手動で変性して希釈する場合にのみ適用されます。

ライブラリーの手動での変性と希釈に必要な消耗品および機器の一覧については、[40 ページの「消耗品および機器」](#) を参照してください。

ローディング量とローディング濃度

この手順では、ライブラリーを変性させて 200 μL の最終ローディング量に希釈します。ローディング濃度は、ライブラリー調製と定量的方法によって変わる場合があります。

最適なローディング濃度は、ライブラリータイプとインサートサイズによって異なります。次の表に、推奨される最終ローディング濃度を示します。

表 10 推奨されるローディング濃度

ライブラリータイプ	最終ローディング濃度 (pM)
AmpliSeq for Illumina Library PLUS	75
Illumina DNA Prep	75
Illumina DNA Prep with Enrichment	100
Illumina DNA Prep with Exome 2.0 Plus Enrichment	100
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	75
Illumina Stranded mRNA Prep	75
Illumina DNA PCR-Free	100
TruSeq DNA Nano 350	120
TruSeq DNA Nano 550	150
TruSeq Stranded mRNA	100
100% PhiX	65

新しい NaOH 希釈液の調製

シーケンス用ライブラリーの変性に使用する新しい 0.2 N NaOH 希釈液を調製します。わずかなピペッティング誤差が最終的な NaOH 濃度に影響しないようにするため、やや多めの量を調製します。

1. マイクロ遠心チューブに以下の量を加えます。
 - ラボラトリーグレード水 (80 μ L)
 - ストック 1.0 N NaOH (20 μ L)

これらの量から、100 μ L の 0.2 N NaOH が得られます。
2. チューブを数回転倒混和します。

HT1 の調製

1. -25°C ~ -15°C の保管庫から HT1 を取り出し、室温で融解します。
2. 変性させたライブラリーを希釈する準備ができるまで、 2°C ~ 8°C で保管するか、氷上に置いておきます。

ライブラリーの希釈

1. 目的の最終ローディング濃度に基づいて、必要なライブラリー濃度を決定します。

最終ローディング濃度 (pM)	ライブラリー濃度 (pM)
55	275
65	325
75	375
100	500
110	550
120	600
130	650
140	700
150	750

2. RSB with Tween 20 を使用してライブラリーを必要なライブラリー濃度に希釈し、最終的に 40 μ L の量に調製します。

3. (オプション) PhiX コントロールを添加します。

- a. マイクロ遠心チューブに以下の量を加え、ライブラリー濃度に合わせて PhiX を調製します。

- 10 nM PhiX (2 μ L)
- 10 mM RSB with Tween 20

次の表から、使用する RSB with Tween 20 の量 (μ L) を決定します。

初期 PhiX 濃度 (nM)	PhiX の量 (μ L)	ライブラリー濃度 (pM)	RSB with Tween 20 の量 (μ L)
10	2	275	70.7
10	2	325	59.5
10	2	375	51.3
10	2	500	38.0
10	2	550	34.4
10	2	600	31.3
10	2	650	28.8
10	2	700	26.6
10	2	750	24.7
10	2	1000	18.0

- b. 軽くボルテックスして混合してから、 $280 \times g$ で1分間遠心します。
- c. $1 \mu\text{L}$ の PhiX を、必要なライブラリー濃度に希釈した $40 \mu\text{L}$ の未変性ライブラリーに加えます。

これらの量から、PhiXの添加率は約2%になります。実際のパーセンテージはライブラリーの品質と量によって異なります。

ライブラリーの変性

1. $40 \mu\text{L}$ の未変性ライブラリーとオプションのPhiXが入ったチューブに $10 \mu\text{L}$ の 0.2 N NaOH を加えます。これらの量から、 $50 \mu\text{L}$ (PhiXを添加した場合は $51 \mu\text{L}$) の変性済みライブラリーが得られます。
2. 軽くボルテックスして混合してから、 $280 \times g$ で1分間遠心します。
3. 室温で8時間インキュベートします。

変性済みライブラリーの希釈

1. 変性済みライブラリーが入ったチューブに $10 \mu\text{L}$ の 400 mM Tris-HCl , pH 8.5 を加えます。これらの量から、 $60 \mu\text{L}$ (PhiXを添加した場合は $61 \mu\text{L}$) の変性済みライブラリーが得られます。
2. 軽くボルテックスして混合してから、 $280 \times g$ で1分間遠心します。

変性済みライブラリーの最終ローディング濃度への希釈

1. 予冷しておいた HT1 を $140 \mu\text{L}$ 加えます。これらの量から、 $200 \mu\text{L}$ (PhiXを添加した場合は $201 \mu\text{L}$) の最終ローディング濃度が得られます。
2. ボルテックスして混合してから、軽く遠心します。
3. シーケンスの準備ができるまで、希釈済みライブラリーを氷上に置いておきます。ローディング濃度に希釈したライブラリーは、希釈したその日にシーケンスしてください。

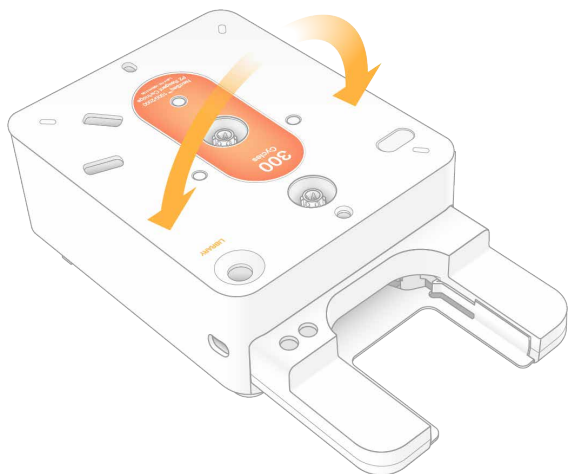
消耗品のカートリッジへのロード

このステップでは、カートリッジをシーケンスに使用する準備として、あらかじめ充填されている試薬を混ぜ合わせ、希釈済みライブラリーとフローセルをロードします。

カートリッジの準備

1. 上部の両側にある切れ込みから破くかはさみで切って、カートリッジの袋を開きます。
2. 袋からカートリッジを取り出します。袋と乾燥剤を処分します。

3. カートリッジを 10 回転倒混和し、試薬を混ぜ合わせます。
転倒中に内部コンポーネントが音を立てますが、これは正常です。

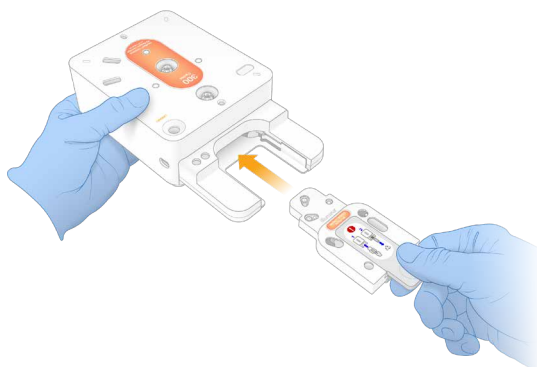


フローセルのロード

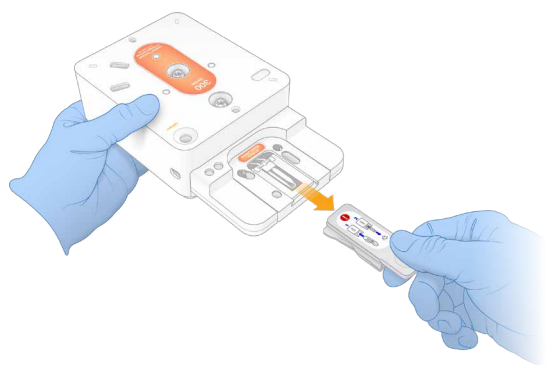
1. 上部の両側にある切れ込みから破くかはさみで切って、銀色のホイルパッケージを開きます。フローセルをすぐに使用できない場合は、94 ページの「消耗品を保管庫に戻す」を参照してください。
2. フローセルをパッケージから引っ張り出します。
フローセルを保管庫に戻す場合に備えて、ホイルパッケージと乾燥剤は取っておきます。乾燥剤はホイルパッケージの底にある小袋に入っています。シーケンスが開始されたら、パッケージと乾燥剤を処分します。



3. ラベルを上に向けてフローセルのグレーのツマミを持ちます。
4. カートリッジの前面のスロットにフローセルを押し込みます。
カチッと音がしてフローセルが固定されます。適切にロードすると、グレーのツマミがカートリッジから突き出た状態になります。

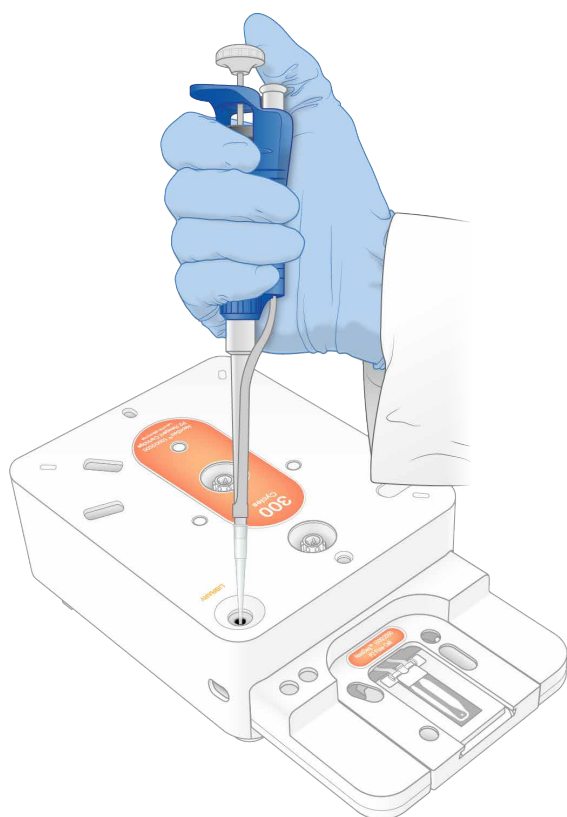


5. グレーのつまみを引っ張って取り外し、フローセルを露出させます。つまみはリサイクルします。



ライブラリーのロード


1. 新しい P1000 ピペットチップを使用してライブラリーリザーバーに穴を開け、ホイルを端に押し穴を広げます。
2. コンタミネーションを避けるため、ピペットチップを廃棄します。
3. 希釈済みライブラリーの入ったピペットチップをリザーバーの底までゆっくりと下げ、希釈済みライブラリーをリザーバーの底に加えます。ホイルに触れないように注意してください。
 - 装置上での変性および希釈プロセスを使用する場合は、20 μ L の希釈済みライブラリーを加えます。
 - 手動での変性および希釈プロセスを使用する場合は、200 μ L の希釈済みライブラリーを加えます。



シーケンスランの開始

このステップでは、以下の4つのモードのいずれかでシーケンスランを開始します。

- **クラウドモード**：ランは、NextSeq 1000/2000 Control Software の [Planned Runs] のリストから選択されます。シーケンス中に CBCL データが BaseSpace Sequence Hub にアップロードされます。シーケンスが完了すると、BaseSpace Sequence Hub で DRAGEN が自動的に開始されます。
- **ハイブリッドモード**：ランは、NextSeq 1000/2000 Control Software の [Planned Runs] のリストから選択されます。シーケンスが完了すると、装置上の解析が自動的に開始されます。CBCL データと DRAGEN による二次解析の出力ファイルは、選択した出力フォルダーに保存されます。
- **ローカルモード**：v2 ファイル形式のサンプルシートを手動で NextSeq 1000/2000 Control Software にインポートします。シーケンスが完了すると、装置上の解析が自動的に開始されます。CBCL データと DRAGEN による二次解析の出力ファイルは、選択した出力フォルダーに保存されます。[Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、シーケンス完了後に BaseSpace Sequence Hub アプリを介して解析を開始することもできます。
- **スタンドアロンモード**：ランをセットアップし、NextSeq 1000/2000 Control Software の手順に従って CBCL データを生成します。

 | プレランチェック中またはラン中にバイザーを開くと、ランが失敗する可能性があります。

 | バイザーの開閉中は、怪我をしないよう装置に手を近づけないでください。

クラウドランまたはハイブリッドランの開始

1. [33 ページの「ランモードの設定」](#)の説明に従って、ランモードを設定します。
2. **[Start]** を選択します。
3. BaseSpace Sequence Hub のサインイン認証情報を入力し、**[Sign In]** を選択します。
4. [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、BaseSpace Sequence Hub の Instrument Run Setup で作成したランを含むワークグループを選択します。

 | 間違いを避けるため、ワークグループの選択は必須です。続行する前にワークグループを選択したことを確認してください。
5. **[Next]** を選択します。
6. ランを選択します。
7. [Analysis]、[Run Length]、[Secondary Analysis] のバージョンが、正しいランと一致していることを確認します。[Analysis] に [Cloud_] と表示され、解析が BaseSpace Sequence Hub で行われることを示します。
8. **[Review]** を選択します。
9. **(オプション)** カスタムリードプライマーとカスタムインデックスプライマーの位置を入力します。カスタムプライマーの調製と添加の詳細については、[36 ページの「カスタムプライマー」](#)を参照してください。使用するライブラリー調製キットの Compatible Products ページを参照して、イルミナカスタムプライマーが必要かどうかを確認してください。

10. **(オプション)** カスタムレシピを選択します。詳細については、[99 ページの「ダークサイクルシーケンス」](#)を参照してください。
NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 以降と Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kit または Illumina Stranded mRNA Prep kit を使用する場合は、カスタムレシピが自動的に選択されます。
11. **(オプション)** ライブラリーを手動で変性して希釈するには、**[Denature and Dilute On Board]** チェックボックスの選択を解除します。[53 ページの「手動での変性および希釈」](#)を参照してください。デフォルト設定は、NextSeq 1000/2000 Control Software の設定に従います。
12. **(オプション)** 出力フォルダーを変更するには、**[Output Folder]** フィールドを選択して新しい場所を入力します。
[Output Folder] フィールドはデフォルト設定から自動入力されます。**[Proactive, Run Monitoring and Storage]** が選択されている場合を除き、出力フォルダーは必須です。
[Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、[Save to BaseSpace Sequence Hub] に [Enabled] と表示されます。
[Proactive and Run Monitoring] を選択した場合は、[Save to BaseSpace Sequence Hub] に [Disabled] と表示されます。
13. ラン情報を確認し、**[Prep]** を選択します。

ローカルランの開始

1. [33 ページの「ランモードの設定」](#)の説明に従って、ランモードを設定します。
2. **[Start]** を選択します。
3. [Proactive, Run Monitoring and Storage] または [Proactive and Run Monitoring] を選択した場合は、BaseSpace Sequence Hub のサインイン認証情報を入力し、**[Sign In]** を選択します。
4. [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、ランを保存する BaseSpace Sequence Hub のワークグループを選択し、**[Next]** を選択します。
! | 間違いを避けるため、ワークグループの選択は必須です。続行する前にワークグループを選択したことを確認してください。
5. [Start With Sample Sheet] の **[Choose...]** を選択し、NextSeq 1000/2000 装置、ポータブルドライブ、またはマウントされたネットワークドライブにある v2 形式のサンプルシートのある場所に移動します。サンプルシートのファイル名には特殊文字を使用できません。
NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 以降では、サンプルシートから DRAGEN のバージョンが自動的に検出され、必要に応じてバージョンを切り替えるように指示されます。システムには該当するバージョンの DRAGEN がインストールされている必要があります。インストールについては、[88 ページの「ソフトウェアのアップデート」](#)を参照してください。
 - **Instrument Run Setup Used** : 該当する場合は、サンプルシート v2 とサポートファイルが入っている .zip フォルダーを選択します。そうでない場合は、サンプルシート v2 を選択します。
 - **Instrument Run Setup Not Used** : 二次解析サポートファイルがサンプルシート v2 と同じディレクトリにあることを確認します。

i | 選択したサンプルシートは v2 形式でなければなりません。サンプルシート v2 を作成するには、BaseSpace Sequence Hub の Instrument Run Setup から生成済みのサンプルシートをダウンロードするか、NextSeq 1000/2000 サポートページで提供されているサンプルシート v2 テンプレートを編集します。サンプルシート v2 の形式と要件の詳細については、[オンライン上の Sample Sheet v2 のページ](#)を参照してください。サンプルシートで参照されているすべてのファイルがサンプルシートと同じフォルダーにあることを確認してください。

6. **[Review]** を選択します。
7. **(オプション)** カスタムリードプライマーとカスタムインデックスプライマーの位置を入力します。カスタムプライマーの調製と添加の詳細については、[36 ページの「カスタムプライマー」](#)を参照してください。使用するライブラリー調製キットの Compatible Products ページを参照して、イルミナカスタムプライマーが必要かどうかを確認してください。
8. **(オプション)** カスタムレシピを選択します。詳細については、[99 ページの「ダークサイクルシーケンス」](#)を参照してください。
NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 以降と Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus kit または Illumina Stranded mRNA Prep kit を使用する場合は、カスタムレシピが自動的に選択されます。
9. **(オプション)** ライブラリーを手動で変性して希釈するには、**[Denature and Dilute On Board]** チェックボックスの選択を解除します。[53 ページの「手動での変性および希釈」](#)を参照してください。デフォルト設定は、NextSeq 1000/2000 Control Software の設定に従います。
10. **(オプション)** 出力フォルダーを変更するには、**[Output Folder]** フィールドを選択して新しい場所を入力します。
[Output Folder] フィールドはデフォルト設定から自動入力されます。[Proactive, Run Monitoring and Storage] が選択されている場合を除き、出力フォルダーは必須です。
[Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、[Save to BaseSpace Sequence Hub] に [Enabled] と表示されます。
[Proactive and Run Monitoring] を選択した場合は、[Save to BaseSpace Sequence Hub] に [Disabled] と表示されます。
11. ラン情報を確認し、**[Prep]** を選択します。

スタンドアロンランの開始

1. [33 ページの「ランモードの設定」](#)の説明に従って、ランモードを設定します。
2. **[Start]** を選択します。
3. [Proactive, Run Monitoring and Storage] または [Proactive and Run Monitoring] を選択した場合は、BaseSpace Sequence Hub のサインイン認証情報を入力し、**[Sign In]** を選択します。
4. [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合は、ランを保存する BaseSpace Sequence Hub のワークグループを選択し、**[Next]** を選択します。
5. **[Set Up New Run]** を選択します。
6. [Run Name] フィールドに、セットアップするランを識別するための固有の名前を入力します。ラン名には、英数字、ダッシュ、ハイフン、アンダースコアを使用できます。

7. [Read Type] で、実行するシーケンスリードの回数を選択します。
- **Single Read** : 1 リードのみを実行します。これは簡便性と速度を重視したオプションです。
 - **Paired End** : リードを 2 回実行します。2 回のリードを統合することで、高品質なデータが得られ、アライメントの精度が向上します。
8. 各リードで実行するサイクル数を入力します。
インデックスサイクル数に上限はありませんが、リードサイクルとインデックスサイクルの合計数を、カートリッジラベルに記載されているサイクル数に 38 (NextSeq 1000/2000 P3 Reagents kit の 300 サイクルのカートリッジを使用する場合は 27) を足した数より小さくする必要があります。[42 ページの「サポートされるサイクル数」](#)を参照してください。
- Read 1** : 1 ~ 301 のサイクル数を入力します。
Index 1 : インデックス 1 (i7) プライマーのサイクル数を入力します。PhiX のみのランの場合は、両方のインデックスフィールドに「0」と入力します。
Index 2 : インデックス 2 (i5) プライマーのサイクル数を入力します。
Read 2 : 301 サイクルまでの値を入力します。この値は通常、Read 1 の値と同じです。
9. [Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合、[Choose...] を選択してサンプルシートをインポートします。
- NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 以降では、サンプルシートから DRAGEN のバージョンが自動的に検出され、必要に応じてバージョンを切り替えるように指示されます。システムには該当するバージョンの DRAGEN がインストールされている必要があります。インストールについては、[88 ページの「ソフトウェアのアップデート」](#)を参照してください。
- i** | 選択したサンプルシートは v2 形式でなければなりません。サンプルシート v2 を作成するには、BaseSpace Sequence Hub の Instrument Run Setup から生成済みのサンプルシートをダウンロードするか、NextSeq 1000/2000 サポートページで提供されているサンプルシート v2 テンプレートを編集します。サンプルシート v2 の形式と要件の詳細については、[オンライン上の Sample Sheet v2 のページ](#)を参照してください。サンプルシートで参照されているすべてのファイルがサンプルシートと同じフォルダーにあることを確認してください。
10. (オプション) カスタムリードプライマーとカスタムインデックスプライマーの位置を入力します。
カスタムプライマーの調製と添加の詳細については、『NextSeq 1000 and 2000 Custom Primers Guide』(文書番号 : 1000000139569) を参照してください。使用するライブラリー調製キットの Compatible Products ページを参照して、イルミナカスタムプライマーが必要かどうかを確認してください。
11. (オプション) カスタムレシピを選択します。詳細については、[99 ページの「ダークサイクルシーケンス」](#)を参照してください。
12. (オプション) ライブラリーを手動で変性して希釈するには、[Denature and Dilute On Board] チェックボックスの選択を解除します。[53 ページの「手動での変性および希釈」](#)を参照してください。
デフォルト設定は、NextSeq 1000/2000 Control Software の設定に従います。
13. (オプション) 出力フォルダーを変更するには、[Output Folder] フィールドを選択して新しい場所を入力します。
[Output Folder] フィールドはデフォルト設定から自動入力されます。[Proactive, Run Monitoring and Storage] が選択されている場合を除き、出力フォルダーは必須です。
14. [Prep] を選択します。

消耗品を装置にロード

1. (グレーのツマミを取り外した) フローセルと希釈済みライブラリーをロードする前に、カートリッジがすでに融解していて、10 回転倒混和されていることを確認します。
2. **[Load]** を選択します。
バイザーが開いてトレイが排出されます。
3. カートリッジをトレイに載せます。その際、ラベルを上に向け、フローセルが装置の中に入るようにします。カートリッジを押し込んで固定します。



4. **[Close]** を選択します。カートリッジが格納されてバイザーが閉まります。
約 3 分後、スキャンされた消耗品の情報が表示されます。
5. (オプション) **[Eject Cartridge]** を選択し、カートリッジを取り出します。
1 分後にバイザーが開き、カートリッジが排出されます。
6. **[Sequence]** を選択します。

プレランチェック

プレランチェックでは、装置チェックの後にフルイディクスチェックが行われます。フルイディクスチェック中にカートリッジのシールに穴が開けられます。このとき、ポンという音が 3～4 回装置から聞こえますが、この音は正常です。これで試薬がフローセルを通過できるようになります。

! フルイディクスチェックが開始された後、消耗品は再利用できません。

1. プレランチェックが完了するまで 15 分ほど待ちます。
正常に完了すると、ランが自動的に開始します。
2. 装置チェック中にエラーが発生した場合は、**[Retry]** を選択してチェックをやり直します。
チェックが進行している間、現在のチェック項目を示す円が表示されます。
3. 繰り返し発生するエラーのトラブルシューティングを行うには、[94 ページの「エラーメッセージの解消」](#)を参照してください。

ランの進捗状況のモニタリング

1. [Sequencing] 画面に表示されるランの進捗状況とメトリクスをモニタリングします。
 - **Estimated run completion** : ランが完了する予想日時。Estimated run completion メトリクスでランの完了日時を正確に計算するには、既にランを 10 回実行している必要があります。
 - **Average %Q30** : Q スコアが 30 以上であるベースコールの平均比率。
 - **Projected Yield** : そのランでコールされる塩基の予想数。
 - **Total Reads PF** : フィルターを通過したペアエンド (該当する場合) クラスターの数 (百万単位)。
 - **Real Time Demux** : Read 1、Index 1、Index 2 のサイクルが完了した後、Read 2 の開始時に行われるデマルチプレックスのステータス。インデックスサイクルが実行されていない場合でも、ステータスは [Complete] と表示されます。クラウドモードのランでは使用できません。
 - **Real Time Alignment** : Read 1、Index 1、Index 2 のサイクルが完了した後、Read 2 の開始時に行われる Read 1 のアライメントのステータス。クラウドモードのランでは使用できません。Q30 と Yield のメトリクスは、26 サイクル以降 (ランの開始から約 6 時間後) に表示されます。
2. ランのプロセスをモニタリングするには、コントロールソフトウェアのメニューから [**Process Management**] を選択します。
3. ランを取り消すには、[**End Run**] を選択します。ランの取り消しの詳細については、[95 ページの「ランの取り消し」](#) を参照してください。
4. 装置から消耗品を取り出します。カートリッジは 3 日以内に装置から取り出してください。

消耗品の取り出し

1. シーケンスが完了したら、[**Eject Cartridge**] を選択します。
使用済みのカートリッジが装置から排出されます。
2. トレイからカートリッジを取り出します。
3. フローセルをカートリッジから取り出します。
4. フローセルには電子部品が含まれています。各地域の適切な基準に従って、フローセルを廃棄します。
5. (オプション) 適切なエリア (シンクまたは有害液体用廃棄容器) の上でカートリッジ側面のイルミナロゴの下にある排液プラグを外します。その際、プラグを水平または下に向けて自分の顔から離れるようにしてください。各地域の適切な基準に従って、使用済みの試薬を排液します。自動試薬パーージを有効にしていない場合、排液にかかる時間はカートリッジのサイズによって異なります。

! | この試薬一式には有害な可能性のある化学物質が含まれます。吸引、嚥下、皮膚への接触、目への接触により身体傷害を生じる危険があります。試薬内の有害物質に対処するため、適切に換気してください。曝露リスクに適したゴーグル、手袋、実験着などの保護具を着用してください。使用済み試薬は化学廃棄物として取り扱い、各地域、国、および現地の適用法に従って廃棄してください。環境、健康、および安全に関する詳細な情報については、jp.support.illumina.com/sds.html に掲載されている SDS を参照してください。
6. カートリッジシェルはリサイクルし、試薬カートリッジは廃棄します。詳細については、[65 ページの「カートリッジのコンポーネントのリサイクル」](#) を参照してください。

7. 試薬カートリッジを廃棄します。

フルディクスはカートリッジとともに廃棄されるため、ポストラッシュは必要ありません。

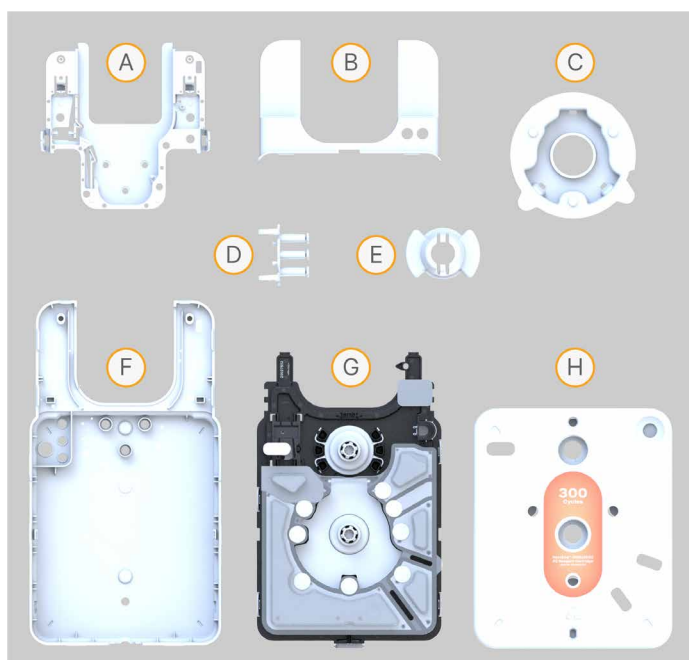
8. [Close Door] を選択し、トレイを再ロードして [Home] 画面に戻ります。

トレイが自動的に再ロードされ、センサーによってカートリッジの取り出しが確認されます。

カートリッジのコンポーネントのリサイクル

カートリッジに使用されているプラスチックは、各地域の固形廃棄物リサイクルガイドラインに従ってリサイクルできる場合があります。各地域の固形廃棄物リサイクル業者に問い合わせるか、自治体が指定するリサイクル手順を確認してください。

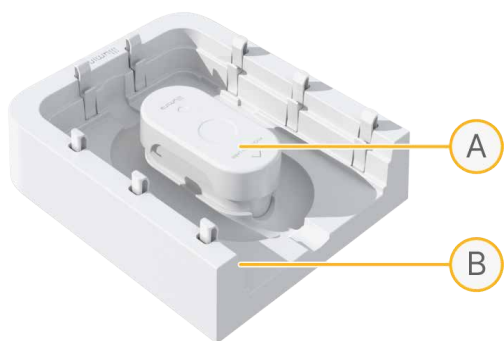
以下にカートリッジのコンポーネントを示します。試薬ウェルプレートとフローセルはリサイクルできません。



- A. フローセルトレイ
- B. フローセルシェル
- C. ピエッサー
- D. バルブアセンブリ
- E. ローターバルブカバー
- F. 底面シェル
- G. 試薬ウェルプレート
- H. 上面シェル

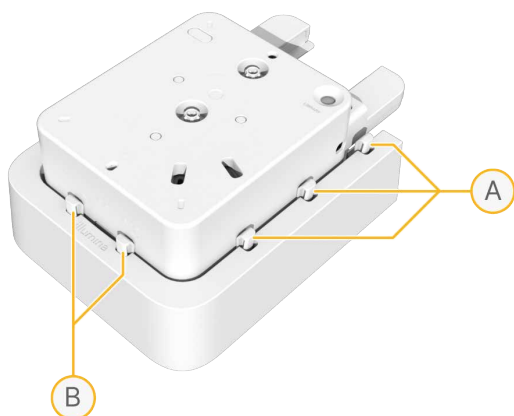
カートリッジシェルは以下のようにリサイクルします。

1. カートリッジから排液されていることを確認します。
2. パンチツールを固定具から取り外します。



- A. パンチツール
- B. 固定具

3. 固定具の幅が広いほうの端部をベンチトップと平行になるように配置します。
4. 固定具のツメの上にカートリッジを置きます。カートリッジを下に押す必要はありません。

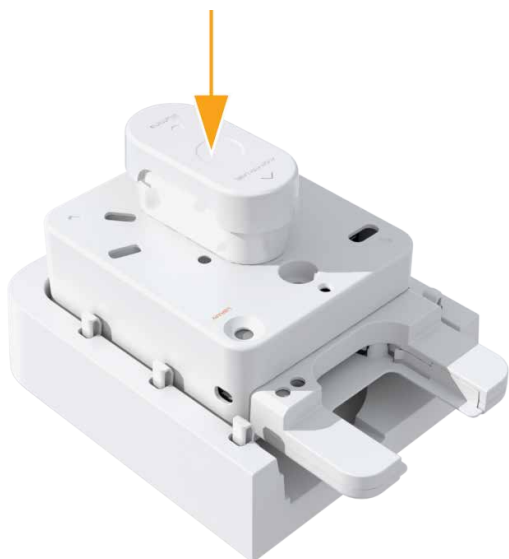


- A. ツメ
- B. 後方のツメ

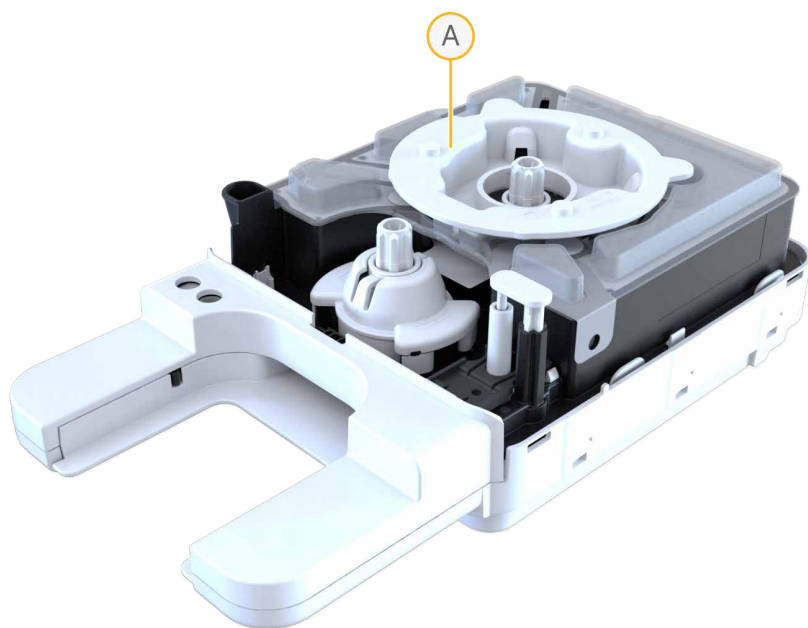
5. カートリッジの位置を後方の2個のツメに合わせます。
6. パンチツールの位置をカートリッジ上面にあるラベルに合わせます。



7. パンチツールを強い力ですばやく下に押し、カートリッジシェルを分離します。
カートリッジシェルにかかる力が不十分な場合、シェルが完全に分離されないことがあります。カートリッジシェルが部分的にしか分離されなかった場合、カートリッジを固定具から取り外し、シェルを閉じてから、パンチツールでもう少し強い力をかけます。

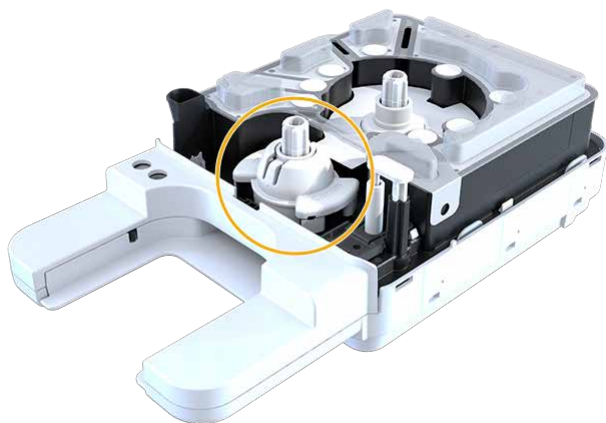


8. カートリッジからピアッサーを取り外します。



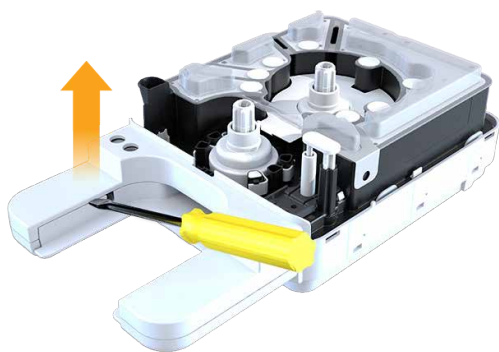
A. ピアッサー

9. ローターバルブアセンブリの前方からカバーを取り外します。



10. フローセルシェルを取り外すには、次のいずれかの方法を使用します。

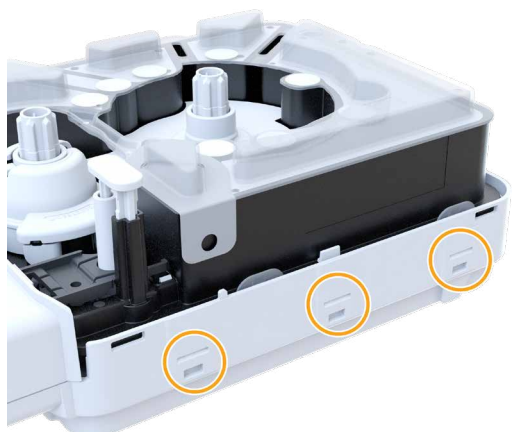
- フローセルシェルと下側アセンブリとの間にマイナスドライバーを差し込み、持ち上げます。



- フローセルシェルを下側アセンブリから引き剥がします。



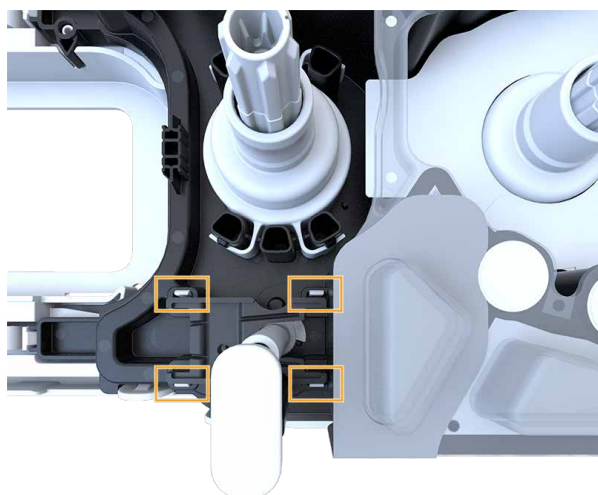
11. 試薬ウェルプレートを下側アセンブリから取り外すには、下側アセンブリの片側にある 1 個のスナップを外し、試薬ウェルプレートを取り外します。



12. フローセルトレイの両方のスナップを外し、フローセルトレイを取り外します。

13. 金属製のスプリングをフローセルトレイから取り外します。

14. バルブアセンブリの 4 個のスナップを試薬ウェルプレートの縁から離れるように押し下げて、スナップを外します。



15. バルブアセンブリの下側の面を引いてバルブアセンブリを取り外します。

16. 試薬ウェルプレートには未使用の試薬が残っている可能性があるため、各地域の適切な基準に従って試薬ウェルプレートを廃棄します。

カートリッジトレイの洗浄

カートリッジトレイの洗浄が必要なのは、カートリッジトレイに試薬が漏れ出した場合のみです。

1. カートリッジを装置から取り出します。
2. 新しいパウダーフリーの手袋をつけ、必要に応じてその他の保護具を着用します。
3. 10% の漂白溶液を布に吹き付けます。
4. 布でカートリッジトレイを拭き、すぐに丈夫なワイプで漂白溶液を拭き取ります。
すぐに拭き取らないと、カートリッジトレイに漂白剤の跡が残ります。
5. カートリッジトレイに 70% エタノール溶液を吹き付け、すぐに丈夫なワイプで拭き取ります。
6. カートリッジトレイをロード位置に戻します。

シーケンスの出力

このセクションでは、Real-Time Analysis ソフトウェアについて説明します。このソフトウェアは、ベースコーリングを行い、クオリティスコアを割り当て、データを出力します。また、さまざまな出力ファイルタイプと、ラン後にそれらが保存される場所についても説明します。

Real-Time Analysis の概要

NextSeq 1000/2000 システムでは、RTA3 (Real-Time Analysis ソフトウェアの実装版) が装置の演算エンジン (CE) で実行されます。RTA3 はカメラから取得したイメージのシグナル強度を抽出し、ベースコーリングを行い、コールされた塩基にクオリティスコアを割り当てます。さらに、PhiX にアライメントし、装置コントロールソフトウェアで参照できるように InterOp ファイルでデータを報告します。

処理時間を最適化するために、RTA3 はメモリーに情報を保持します。RTA3 が中断された場合、処理は再開されず、メモリーに保持された処理中のランデータはすべて失われます。

RTA3 への入力

RTA3 による処理には、ローカルシステムメモリー内のタイルの画像が必要です。RTA3 は、ラン情報と処理コマンドをコントロールソフトウェアから受け取ります。

RTA3 からの出力

各色チャンネルのイメージは、タイルとして RTA3 にメモリー内で渡されます。これらのイメージから、クオリティスコアが付加されたベースコールのファイルとフィルターファイルのセットが出力されます。他のすべての出力は補助的な出力ファイルです。

ファイルタイプ	内容説明
ベースコールファイル	各タイルの解析結果は、連結ベースコール (*.cbcl) ファイルに含まれます。同一レーンかつ同一面のタイルが、レーンおよび面ごとに1つの *.cbcl ファイルに集約されます。
フィルターファイル	クラスターがフィルターをパスしたかどうかを規定するフィルターファイル (*.filter) がタイルごとに生成されます。
クラスターロケーションファイル	クラスターロケーション (*.locs) ファイルには、1つのタイル上の全クラスターの X、Y 座標が記録されています。クラスターロケーションファイルはランごとに生成されます。

出力ファイルは DRAGEN および BaseSpace Sequence Hub での下流の解析に使用されます。

エラー処理

RTA3 はログファイルを生成し、それを Logs フォルダに書き込みます。エラーは *.log ファイル形式のテキストファイルに記録されます。

以下のログファイルが、処理の終了時に最終出力先に転送されます。

info_00000.log には、重要なランイベントの要約が含まれます。

error_00000.log には、ラン中に発生したエラーの一覧が含まれます。

warning_00000.log には、ラン中に発生した警告の一覧が含まれます。

フローセルタイトル

タイトルはフローセル上の小さなイメージングエリアです。カメラはタイトルごとに1つのイメージを取得します。

NextSeq 1000/2000 P1 フローセルには合計 32 個のタイトルがあります。NextSeq 1000/2000 P2 フローセルには、使用する試薬キットに応じて合計 132 個または 96 個のタイトルがあります。NextSeq 2000 P3 フローセルには合計 336 個のタイトルがあります。

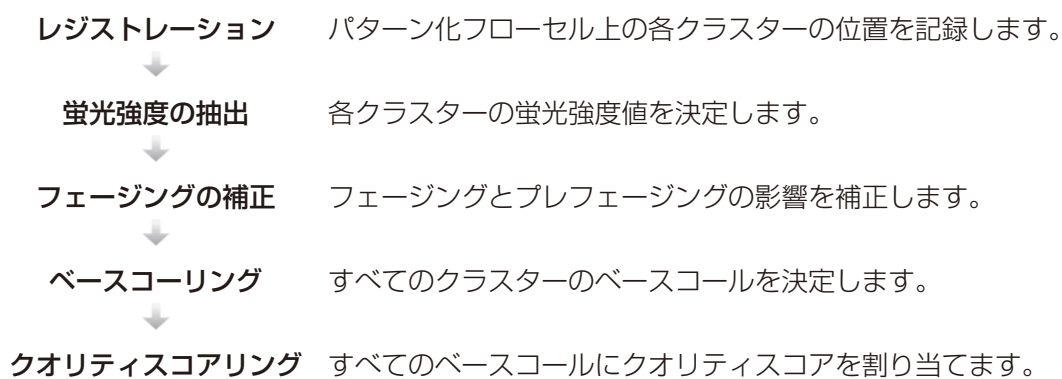
表 11 フローセルタイトル

フローセルのコンポーネント	NextSeq 1000/2000 P1 フローセル	NextSeq 1000/2000 P2 フローセル (100 サイクル、200 サイクル、300 サイクルキット)	NextSeq 1000/2000 P2 フローセル (600 サイクルキット)	NextSeq 2000 P3 フローセル	内容説明
レーン	1	1	1	2	レーンは光学的に区別できていますが、流路的に分離されたチャンネルではありません。
面	2	2	2	2	P1、P2、P3 フローセルは 2 つの面（上面と底面）でイメージングされます。タイトルの上面がまずイメージングされます。
レーンあたりのスワス	4	6	4	6	スワスはフローセルレーン内の列です。
スワスあたりのタイトル数	4	11	12	14	タイトルはスワスの一部であり、フローセル上のイメージングされるエリアを表します。
生成される総タイトル数	32	132	96	336	レーン × 面 × スワス × スワスあたりのタイトル数 = 総タイトル数になります。

タイルの命名規則

- タイル名は、フローセル上のタイル位置を表す 4 桁の番号です。例えば、タイル名 1205 は「上面、スワス 2、タイル 05」を示します。
- 最初の桁は面を表します。上面が 1、底面が 2 です。
- 2 桁目はスワス番号を表し、1、2、3、4、5、6 のいずれかになります。
- 最後の 2 桁はタイル番号を表します。

Real-Time Analysis のワークフロー



レジストレーション

レジストレーションでは、画像と、パターン化フローセル上のナノウェルに対応した錯列四角の配置とが重ね合わされます。ナノウェルは規則正しく配置されているため、タイル内の各クラスターの X 座標と Y 座標はあらかじめ決まっています。各ランのクラスターロケーション (s.locs) ファイルにクラスター位置が書き込まれます。

あるサイクルでいずれかのイメージのレジストレーションが失敗した場合、そのサイクルのそのタイルに対してベースコールは行われません。レジストレーションに失敗したイメージは、Sequencing Analysis Viewer を使用して特定できます。

蛍光強度の抽出

レジストレーションが完了した後、特定のイメージ中の各ナノウェルの蛍光強度値が計算されます。レジストレーションに失敗した場合、そのタイルの蛍光強度は抽出できません。

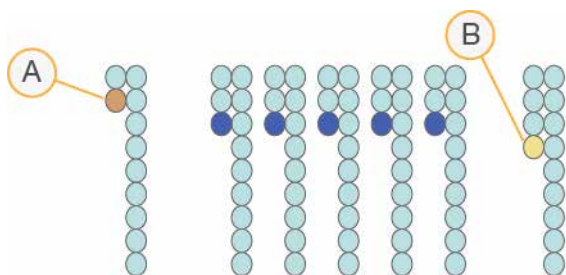
フェージングの補正

シーケンス反応中、クラスター内の各 DNA 鎖はサイクルごとに 1 塩基ずつ伸長します。現在のインコーポレーションサイクルと DNA 鎖の位相がずれると、フェージングとプレフェージングが起こります。

塩基が遅れる方へずれるとフェージングが起こります。

塩基が先へ進む方へずれるとプレフェージングが起こります。

図 5 フェージングとプレフェージング



- A. 塩基がフェージングしているリード
- B. 塩基がプレフェージングしているリード

RTA3 はフェージングとプレフェージングの影響を補正します。これにより、ラン全体のすべてのサイクルでデータ品質が向上します。

ベースコーリング

ベースコーリングでは、特定のサイクルにおいて特定のタイルのすべてのクラスターに対する塩基（A、C、G、T）を決定します。NextSeq 1000/2000 システムは 2 色チャンネルシーケンスを使用するため、緑チャンネルと青チャンネルからの 2 つのイメージのみを使用して 4 つの DNA 塩基のデータをエンコードできます。

No Call は N で識別されます。No Call は、クラスターがフィルターを通過しなかった場合、レジストレーションが失敗した場合、またはクラスターがイメージから外れた場合に起こります。

各クラスターのシグナル強度が緑と青のイメージから抽出されて互いに比較され、その結果 4 つの集団に分けられます。各集団がそれぞれ 1 つの塩基に対応します。ベースコーリングプロセスは、各クラスターが属する集団を決定します。

図 6 クラスターシグナル強度の可視化

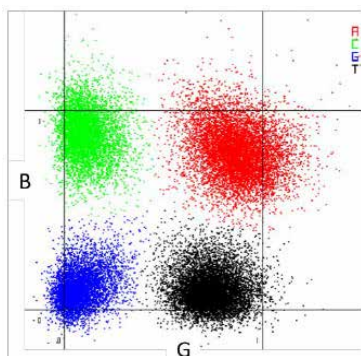


表 12 2 色チャンネルシーケンスのベースコール

塩基	緑チャンネル	青チャンネル	結果
A	1 (存在する)	1 (存在する)	緑チャンネルと青チャンネルの両方でシグナル強度を示すクラスター。
C	0 (存在しない)	1 (存在する)	青チャンネルのみでシグナル強度を示すクラスター。
G	0 (存在しない)	0 (存在しない)	既知のクラスター位置でシグナル強度を示さないクラスター。
T	1 (存在する)	0 (存在しない)	緑チャンネルのみでシグナル強度を示すクラスター。

i | 各クラスターの色は、Sequencing Analysis Viewer (SAV) および BaseSpace Sequence Hub Run Data by Cycle の %Base プロットに関連しています。緑チャンネルおよび青チャンネルには関連していません。

フィルターを通過するクラスター

ラン中に RTA3 は生データをフィルターして、データクオリティ閾値に満たないリードを除去します。オーバーラップしたり、低品質のクラスターが取り除かれます。

2 色チャンネル解析において、RTA3 は集団ベースの方式を使用してベースコールの Chastity (シグナル強度の純度) を決定します。初頭 25 サイクルでのベースコールにおいて、所定の閾値を下回るような Chastity が 1 つ以下であった場合、そのクラスターはフィルターを通過します (PF)。PhiX が含まれている場合、26 サイクルの時点で、フィルターを通過したクラスターに対応するタイルのサブセット上で PhiX アライメントが実行されます。フィルターを通過しなかったクラスターについては、ベースコールとアライメントは行われません。

クオリティスコア

クオリティスコア (Q スコア) は不正確なベースコールの確度の予測値です。高い Q スコアは、ベースコールのクオリティが高く、正しい可能性が高いことを示しています。Q スコアを決定した後、ベースコール (*.cbcl) ファイルに結果が記録されます。

Q スコアは、エラーの確率がどれだけ小さいかを簡潔に伝える指標です。クオリティスコアは Q(X) として表されます (X はスコア)。次の表に、クオリティスコアとエラーの確率の関連性を示します。

Q スコア Q(X)	エラーの確率
Q40	0.0001 (10,000 分の 1)
Q30	0.001 (1,000 分の 1)
Q20	0.01 (100 分の 1)
Q10	0.1 (10 分の 1)

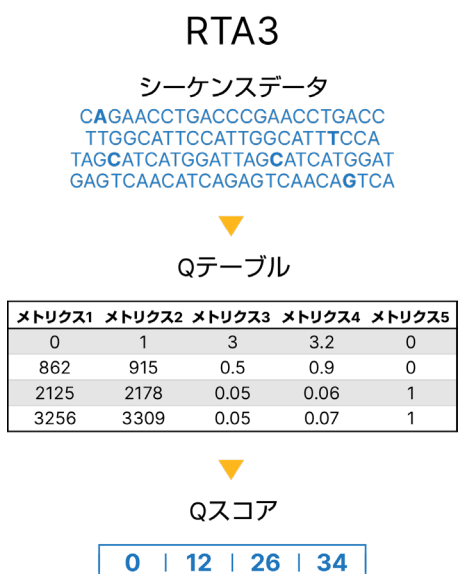
クオリティスコアリングおよびレポーティング

クオリティスコアリングは、ベースコールごとにいくつかの予測因子を計算し、その値を基にクオリティテーブルを参照して Q スコアを割り当てます。クオリティテーブルは、特定のシーケンシングシステム構成とケミストリーバージョンの組み合わせから作成されたランに対して最適なクオリティの予測値を与えるように作られています。

i | クオリティスコアリングは、Phred アルゴリズムの修正版に基づいています。

NextSeq 1000/2000 システムの Q テーブルを作成するにあたり、特定の予測的特徴のクラスタリングに基づいて、3つのベースコールグループを決定しました。ベースコールをグループ化した後、3つのグループそれぞれの平均エラー率を経験的に計算し、対応する Q スコアを、そのグループに関連する予測的特徴とともに Q テーブルに記録しました。そのため、RTA3 で可能な Q スコアは3つだけであり、これらの Q スコアはグループの平均エラー率を表します。その結果、全体的に見て、簡素でありながら精度の高いクオリティスコアリングになっています。Q テーブルの3つのグループは、最低限 (Q15 未満)、中程度 (~ Q20)、高品質 (Q30 超) のベースコールに対応します。50 サイクル、100 サイクル、200 サイクル、および 300 サイクルのカートリッジの場合、各グループに割り当てられるスコアはそれぞれ 12、26、34 です。600 サイクルのカートリッジの場合、各グループに割り当てられるスコアはそれぞれ 9、20、34 です。さらに、ノーコールには 0 という無効なスコアが割り当てられます。この Q スコアのレポートングモデルにより、正確さやパフォーマンスに影響を与えずに、必要なストレージ容量と帯域幅が削減されました。

図 7 RTA3 の簡素化された Q スコアリング



シーケンス出力ファイル

ファイルタイプ	ファイルの説明、場所、名前
連結ベースコールファイル	<p>解析された各クラスターは、サイクル、レーン、および面ごとに1つのファイルに集約された連結ベースコールファイルに記録されます。この集約されたファイルには、各クラスターの連結ベースコールとエンコードされたクオリティスコアが含まれます。連結ベースコールファイルは、BaseSpace Sequence Hub または bcl2fastq2 によって使用されます。</p> <p>Data/Intensities/BaseCalls/L001/C1.1 L[lane]_[surface].cbcl (例: L001_1.cbcl)</p>
クラスターロケーションファイル	<p>フローセルごとに作成されるバイナリー形式のクラスターロケーションファイルには、タイル内のクラスターの XY 座標が含まれます。フローセルのナノウェルレイアウトと一致する六角形のレイアウトにより、座標はあらかじめ定められています。</p> <p>Data/Intensities s_[lane].locs</p>

ファイルタイプ	ファイルの説明、場所、名前
フィルターファイル	<p>フィルターファイルは、クラスターがフィルターを通過したかどうかを示します。サイクル 26 の時点で、25 サイクルまでのデータを使用してフィルターファイルが作成されます。タイルごとに1つのフィルターファイルが生成されます。</p> <p>Data/Intensities/BaseCalls/L001 s_[lane]_[tile].filter</p>
InterOp ファイル群	<p>このバイナリー形式のレポートファイルは、装置上では装置コントロールソフトウェアを使用して、装置外では SAV または BaseSpace Sequence Hub を使用して表示できます。</p> <p>InterOp ファイルはラン全体を通じて更新されます。</p> <p>InterOp フォルダ</p>
ラン情報ファイル	<p>ラン名、各リードのサイクル数、リードがインデックスリードであるかどうか、フローセル上のスワスとタイルの番号の一覧が含まれます。ラン情報ファイルは、ランの開始時に生成されます。</p> <p>[Root folder], RunInfo.xml</p>

DRAGEN による二次解析の出力ファイル

DRAGEN Bio-IT Platform は、以下のいずれかの解析パイプラインを使用して、シーケンス出力を装置上でさらに解析します。

- BCL 変換
- Germline
- RNA
- Enrichment
- Single Cell RNA
- DNA Amplicon

このセクションでは、出力ファイルの情報など、DRAGEN の各パイプラインについて説明します。DRAGEN は、各パイプラインに固有のファイルを生成するだけでなく、解析から得られたメトリクスを <sample_name>.metrics.json ファイルおよび [82 ページの「DRAGEN BCL 変換パイプライン」](#) に示すレポートで提供します。DRAGEN の詳細については、[DRAGEN Bio-IT Platform のサポートサイトのページ](#)を参照してください。

すべての DRAGEN パイプラインは、入力 BCL ファイルの解凍と出力 BAM/CRAM ファイルの圧縮をサポートします。

また、FASTQ.ora ファイルの生成と DRAGEN Original Read Archive (ORA) 圧縮も、すべての DRAGEN パイプラインでサポートされています。ORA 圧縮を使用すると、FASTQ ファイルのサイズが最大 5 分の 1 に縮小されます。詳細については、[イルミナサポートサイト](#)を参照してください。

出力ファイルに関する考慮事項：

- Germline、RNA、Enrichment、および DNA Amplicon パイプラインを使用して装置上の解析を実行する場合、[Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択していても、BAM ファイルは BaseSpace Sequence Hub にアップロードされません。

DRAGEN Enrichment パイプライン

DRAGEN Enrichment パイプラインは、以下の機能をサポートします。DRAGEN 3.7 以降を使用する場合、生殖細胞モードと体細胞（腫瘍のみ）モードの両方がサポートされます。

- サンプルのデマルチプレックス
- マッピングとアライメント（ソートと重複マーキングを含む）
- スモールバリエーションコール
- 構造多型コール
- コピー数バリエーションコール（バージョン 3.10 以降）

バリエーションコーリングを実行するには、*.bed ファイルをサンプルシートに含めるか、BaseSpace Sequence Hub の Instrument Run Setup で指定する必要があります。構造多型コールは、ペアエンドリードおよび生殖細胞モードの場合にのみ生成されます。

DRAGEN Enrichment バージョン 3.8 以降を使用する場合、ノイズベースラインファイルを入力して体細胞モードでの性能を改善できます。[31 ページの「ノイズベースラインファイルのインポート」](#)を参照してください。

コピー数バリエーション（CNV）コールを使用する場合は、正常サンプルのパネルを提供する必要があります。[32 ページの「CNV コーリング用の正常サンプルのパネルのインポート」](#)を参照してください。

このパイプラインは、以下の出力ファイルを生成します。

コンポーネント	タイプ	出力ファイル名
マッピング / アライニング	BAM または CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.bam、または • < サンプル名 >.cram
スモールバリエーションコール	VCF および gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.hard-filtered.gvcf.gz • < サンプル名 >.hard-filtered.vcf.gz
構造多型コール	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.sv.vcf.gz
コピー数バリエーションコール	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.cnv.vcf.gz

* gVCF 出力ファイルを使用できるのは、生殖細胞モードの場合のみです。

DRAGEN Germline パイプライン

DRAGEN Germline パイプラインは、以下の機能をサポートします。

- サンプルのデマルチプレックス
- マッピングとアライメント（ソートと重複マーキングを含む）
- スモールバリエーションコール

- ペアエンドリード用構造多型コール
- ヒトゲノム用コピー数バリエーションコール
- ヒトゲノム用リピート伸長
- ヒトゲノム用ホモ接合性領域
- **(DRAGEN v3.8 以降)** CYP2D6 の検出

構造多型コールは、ペアエンドリードの場合にのみ生成されます。

このパイプラインは、以下の出力ファイルを生成します。

コンポーネント	タイプ	出力ファイル名
マッピング / アライニング	BAM または CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.bam、または • < サンプル名 >.cram
スモールバリエーションコール	VCF および gVCF	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.hard-filtered.gvcf.gz • < サンプル名 >.hard-filtered.vcf.gz
構造多型コーラー	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.sv.vcf.gz
コピー数バリエーションコーラー	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.cnv.vcf.gz
リピート伸長	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.repeats.vcf.gz
ホモ接合性領域	CSV および BED	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.roh_metrics.csv • < サンプル名 >.roh.bed
CYP2D6 の検出	TSV	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.cyp2d6.tsv

DRAGEN DNA Amplicon パイプライン

DRAGEN DNA Amplicon パイプラインは、以下の機能をサポートします。

- サンプルのデマルチプレックス
- マッピングとアライメント（ソートと重複マーキングを含む）
- 生殖細胞モードまたは体細胞モードでのスモールバリエーションコール

バリエーションコーリングを実行するには、*.bed ファイルをサンプルシートに含めるか、BaseSpace Sequence Hub の Instrument Run Setup で指定する必要があります。

このパイプラインは、以下の出力ファイルを生成します。

コンポーネント	タイプ	出力ファイル名
マッピング / アライニング	BAM または CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.bam、または • < サンプル名 >.cram
スモールバリエーションコール	VCF および gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.hard-filtered.gvcf.gz • < サンプル名 >.hard-filtered.vcf.gz

* gVCF 出力ファイルを使用できるのは、生殖細胞モードの場合のみです。

DRAGEN RNA パイプライン

DRAGEN RNA パイプラインは、以下の機能をサポートします。

- サンプルのデマルチプレックス
- マッピングとアライメント（ソートと重複マーキングを含む）
- 遺伝子融合検出
- 転写因子の定量
- **(DRAGEN v3.8 以降)** 遺伝子発現差解析

出力ファイルを生成するには、サンプルシートに GTF ファイルを指定するか、既定の `genes.gtf.gz` とリファレンスゲノムが存在することを確認します。

このパイプラインは、以下の出力ファイルを生成します。

コンポーネント	タイプ	出力ファイル名	内容説明
マッピング / アライニング	BAM または CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.bam、または • < サンプル名 >.cram 	SAM 仕様を満たすアライメント出力。
遺伝子融合検出	プレーンテキスト	<ul style="list-style-type: none"> • < サンプル名 >.fusion_candidates.preliminary • < サンプル名 >.fusion_candidates.final 	<ul style="list-style-type: none"> • フィルターが適用される前の融合候補。 • フィルターが適用された後の融合候補。
転写因子の定量	プレーンテキスト	<ul style="list-style-type: none"> • sample_name.quant.genes.sf • sample_name.quant.sf 	<ul style="list-style-type: none"> • 遺伝子レベルでの転写因子の定量結果。 • すべての転写因子の定量結果。
発現差解析	PNG	以下の発現差出力ファイルの表を参照してください。	出力ファイルを生成するには、サンプルシートに比較対象が設定されている必要があります。

発現差解析が有効になっている場合、以下のファイルが出力されます。

ファイル名	内容説明
Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv	発現差解析メトリクスが含まれます。
Control_vs_Comparison.genes.counts.csv	コントロールグループと比較グループのサンプルごとに、各遺伝子にマップされたリードの数が記載されます。

ファイル名	内容説明
Control_vs_ Comparison.genes.heatmap.png	コントロールグループと比較グループのサンプルについて、発現差のある遺伝子の発現を表すヒートマップです。このヒートマップには、調整された p 値が -0.05 未満である、発現差のある遺伝子のみが示されます。発現差のある遺伝子の数が 30 を超える場合、上位 30 位までの発現差のある遺伝子のみが使用されます。DESeq1 が収束に失敗した場合、または発現差のある遺伝子が存在しない場合、ファイルは生成されません。
Control_vs_Comparison.genes.ma.png	遺伝子発現比のばらつきが平均シグナル強度の関数として示されます。2 つのサンプルの測定値の差を示すために、データが M (ログ比率) スケールと A (平均) スケールに変換され、値がプロットされます。MA プロットでは、すべてのサンプルについて、ノーマライズされたカウントの平均に対する特定の変数に起因する log ₂ 倍率変化が示されます。調整された p 値が 0.1 未満の場合、点は赤色です。ウィンドウの範囲外の点は、白三角でプロットされます。上向き三角は、正の対数倍率変化を表します。下向き三角は、負の対数倍率変化を表します。
Control_vs_ Comparison.genes.pca.png	最も大きい差異を説明する、最初の 2 つの主要要素を示すプロットです。
Control_vs_Comparison.genes.res.csv	DESeq2 の結果が含まれます。この結果では、発現量の平均値、log ₂ (倍率変化)、log ₂ の標準誤差、p 値、調整された p 値、各遺伝子の発現状態が示されます。
Control_vs_ Comparison.genes.rlog.csv	DESeq2 により計算された、正規化された対数変換カウントが含まれます。

DRAGEN Single Cell RNA パイプライン

DRAGEN Single Cell RNA パイプラインは、以下の機能をサポートします。

- サンプルのデマルチプレックス
- マッピングとアライメント (ソートと重複マーキングを含む)
- 細胞および遺伝子の分類

出力ファイルを生成するには、サンプルシートに GTF ファイルを指定するか、既定の genes.gtf.gz と リファレンスゲノムが存在することを確認します。

このパイプラインは、以下の出力ファイルを生成します。

コンポーネント	タイプ	出力ファイル名
マッピング / アライニング	BAM または CRAM	• < サンプル名 >.bam、または • < サンプル名 >.cram
細胞 / 遺伝子分類	TSV、CSV、MTX	• < サンプル名 >.scRNA.barcodeSummary.tsv • < サンプル名 >.scRNA.genes.tsv • < サンプル名 >.scRNA.matrix.mtx
解析レポート	HTML	< サンプル名 >.dragen.scrna-report.*.html

DRAGEN BCL 変換パイプライン

DRAGEN BCL 変換パイプラインは、シーケンスランで生成された BCL データとサンプルシートの情報を使用して、各サンプルの FASTQ ファイルを出力します。FASTQ ファイル名は <sample_name>.fastq.gz です。

このパイプラインは、以下のレポートを生成します。

コンポーネント	タイプ	出力ファイル名
デマルチプレックス	CSV	• Demultiplex_Stats.csv
アダプターメトリクス	CSV	• Adapter_Metrics.csv
インデックスホッピング	CSV	• Index_Hopping_Counts.csv
上位の不明なバーコード	CSV	• Top_Unknown_Barcodes.csv

デマルチプレックス統計レポート

デマルチプレックス統計レポートには、サンプルシート内の各サンプルに割り当てられたパスフィルターリード数に関する情報が含まれています。サンプルと明確に関連付けられていないリードは、「undetermined」と分類されます。また、各サンプルに割り当てられたパスフィルター（PF）リード内の塩基のクオリティスコアに関する情報も含まれます。

このレポートには以下の情報が含まれます。

メトリクス	内容説明
Lane	サンプルをシーケンスしたフローセルのレーン。
SampleID	サンプルシートから取得されたサンプル ID。リードがどのサンプルにも対応しない場合、このフィールドには「undetermined」と表示されます。
Index	サンプルシートの Index Read 1 と Index Read 2 をハイフンで区切って連結したもの。リードがどのサンプルにも対応しない場合、このフィールドには「undetermined」と表示されます。
# Reads	指定したレーンのサンプルに対してデマルチプレックスされた PF リードの数。
# Perfect Index Reads	サンプルシートに指定されているインデックス配列の組み合わせに完全に一致するリードの数。
# One Mismatch Index Reads	サンプルシートに指定されているインデックス配列の組み合わせにおいてエラーが 1 つのリードの数。
# of ≥ Q30 Bases (PF)	Q30 クオリティ閾値を超えるリードに対応する塩基（アダプターを含む）の数。
Mean Quality Score (PF)	指定したレーンのサンプルに対応するリードの平均クオリティスコア。この値にはアダプター塩基が含まれます。

アダプターメトリクスレポート

アダプターメトリクスファイルには、各リードに関連するアダプターとサンプル塩基の数が含まれます。このレポートには以下の情報が含まれます。

メトリクス	内容説明
Lane	サンプルをシーケンスしたフローセルのレーン。
Sample_ID	サンプルシートから取得されたサンプル ID。リードがどのサンプルにも対応しない場合、このフィールドには「undetermined」と表示されます。
Index	サンプルシートから取得された Index1 シーケンス。サンプルシートに Index が指定されていない場合、またはサンプル ID の値が「undetermined」の場合、このフィールドは空白になります。
Index2	サンプルシートから取得された Index2 シーケンス。サンプルシートに Index2 が指定されていない場合、またはサンプル ID の値が「undetermined」の場合、このフィールドは空白になります。
R1_AdapterBases	サンプルシートの AdapterRead1 に対応する塩基の数。
R1_SampleBases	対応するレーンおよびサンプルの、Read 1 からトリムまたはマスクされた塩基の数。
R2_AdapterBases	サンプルシートの AdapterRead2 に対応する塩基の数。
R2_SampleBases	対応するレーンおよびサンプルの、Read 2 からトリムまたはマスクされた塩基の数。
# Reads	指定したレーンのサンプルに対するリードの数。

インデックスホッピングカウントレポート

インデックスホッピングカウントレポートには、デュアルインデックスランにおいて期待されるインデックスとホッピングが起こったインデックスのリードの数が含まれます。このレポートには、レーンごとの、どちらのインデックスでもバーコードの重複が検出されないユニークデュアルインデックスのみが含まれます。レーンのインデックスホッピングメトリクスを生成するには、各インデックス内のすべてのエントリーペアに少なくとも $2N + 1$ のハミング距離が必要です。ここで N は、そのインデックスに指定されたバーコードの許容されるミスマッチ数を示します。

このレポートには以下の情報が含まれます。

インデックのないラン、シングルインデックスラン、またはユニークデュアルインデックスを含まないレーンの場合、このファイルにはヘッダーのみが含まれます。

メトリクス	内容説明
Lane	サンプルをシーケンスしたフローセルのレーン。
# Reads	指定したレーンのサンプルに対するリードの数。
SampleID	サンプルシートから取得されたサンプル ID。リードがどのサンプルにも対応しない場合、このフィールドには「undetermined」と表示されます。
Index	サンプルシートから取得された Index1 シーケンス。リードがシングルエンドの場合、またはサンプル ID の値が「undetermined」の場合、このフィールドは空白になります。

メトリクス	内容説明
Index2	サンプルシートから取得された Index2 シーケンス。リードがシングルエンドの場合、またはサンプル ID の値が「undetermined」の場合、このフィールドは空白になります。

上位の不明なバーコードレポート

上位の不明なバーコードレポートには、許容されるミスマッチ数に従って、サンプルシートで識別されなかったレーンごとの上位 100 のインデックスまたはインデックスペアが含まれます。100 番目に高いインデックスカウントエントリとして配置されたインデックスが複数ある場合、同じカウントのすべてのインデックス値が 100 番目のエントリとして出力されます。

このレポートには以下の情報が含まれます。

メトリクス	内容説明
Lane	サンプルをシーケンスしたフローセルのレーン。
Index	Index Read 1 の各不明インデックスの配列。不明インデックスがない場合、このフィールドは空白になります。
Index2	Index Read 2 の各不明インデックスの配列。ランがシングルリードの場合、または不明インデックスがない場合、このフィールドは空白になります。
# Reads	指定したレーンのサンプルに対するリードの数。

Illumina DRAGEN QC レポート

すべてのパイプラインについて、DRAGEN FastQC による QC プロットがデフォルトで生成されます。集約された QC 結果は `AggregatedFastqcMetrics` フォルダに保存され、サンプルごとの結果は `<sample_name>` フォルダに保存されます。

サンプル数が 512 より多い場合、QC レポートは生成されません。

以下の QC プロットが提供されます。

QC プロット	内容説明
adapter_content	各塩基対のシーケンスの割合。
positional_mean_quality	各リード位置の、Phred スケールのベースクオリティスコアの平均。
gc_content	各シーケンスリードの GC コンテンツの割合。
positional_quality.read_1	Read 1 の特定の位置での、特定のヌクレオチドを持つ塩基の Phred スケールのクオリティ値の平均。
gc_quality	
positional_quality.read_2	Read 2 の特定の位置での、特定のヌクレオチドを持つ塩基の Phred スケールのクオリティ値の平均。
n_content	
read_length	各リードのシーケンス長。

QC プロット	内容説明
positional_base_content.read_1	Read 1 の特定の位置での、各ヌクレオチドの塩基の数。
read_quality	各シーケンスリードの、Phred スケールのクオリティスコアの平均。
positional_base_content.read_2	Read 2 の特定の位置での、各ヌクレオチドの塩基の数。

DRAGEN による二次解析の出力フォルダーの構成

デフォルト設定では、DRAGEN は [Settings] タブで選択されている出力フォルダーに出力ファイルを生じます。DRAGEN のワークフローごとに、サマリーレポートを含む `report.html` ファイルが生成されます。

📁 Data

📄 `report.html`

📄 `report_files`

📁 AggregateFastQCPlots

📄 `*.png`

📄 `*stderr_.txt`

📄 `*stdout_.txt`

📄 `dragen_prev_48_hrs.log`

📄 `d1m_prev_48_hrs.log`

📄 `SampleSheet.csv`

📄 ランの入力ファイル (BED ファイル、GTF ファイルなど)

📁 sample_name

📁 `enrich_caller`、`germline_seq`、`dna_amplicon_seq`、`rna_seq`、または `scrna_seq`

📁 sample_name

📄 `*.png`

📄 `dragen_*.log`

📄 `sample_name.*.metrics.csv`

📄 **[DNA]** `sample_name.*.vcf.gz`

📄 **[DNA]** `sample_name.*.gvcf.gz` : DRAGEN Bio-IT Platform Amplicon (体細胞) パイプラインでは提供されません。

📄 `sample_name.*.bam` または `sample_name.*.cram`

📄 `Logs`

📄 **[RNA]** `sample_name.fusion_candidates.filter_info`

📄 **[RNA]** `sample_name.fusion_candidates.final`

- 📄 [RNA] sample_name.quant.genes.sf
- 📄 [RNA] sample_name.quant.sf
- 📄 sample_name.metrics.json
- 📄 [scRNA] sample_dragen-scrna-report.*.html
- 📄 [scRNA] sample_name.scRNA.barcodeSummary.tsv
- 📄 [Germline] sample_name.roh_metrics.csv
- 📄 [Germline] sample_name.roh.bed
- 📄 [Germline] sample_name.cyp2d6.tsv
- 📄 sample_name.fastqc_metrics.csv
- 📄 sample_name.trimmer_metrics.csv

📁 [RNA] DifferentialExpression

📁 Comparison1

- 📄 Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv
- 📄 Control_vs_Comparison.genes.counts.csv
- 📄 Control_vs_Comparison.genes.disp.pdf
- 📄 Control_vs_Comparison.genes.heatmap.pdf
- 📄 Control_vs_Comparison.genes.ma.pdf
- 📄 Control_vs_Comparison.genes.pca.pdf
- 📄 Control_vs_Comparison.genes.res.csv
- 📄 Control_vs_Comparison.genes.rlog.csv

📁 ComparisonN

📁 logs

- 📄 *.txt
- 📄 *.csv

📁 **fastq** : KeepFastq が true に設定されている場合にのみ存在します。

- 📄 *.fastq.gz

📁 **ora_fastq** : FastqCompressionFormat が dragen に設定されている場合にのみ存在します。






- 📄 *.fastq.ora

📁 RunInstrumentAnalyticsMetrics

📁 0001

- 📄 dataset.json
- 📄 fastqc_metrics.csv

 **0002**

-  dataset.json
-  fastqc_metrics.csv
-  Adapter_Metrics.csv
-  Demultiplex_Stats.csv
-  Index_Hopping_Counts.csv

 **Reports**





-  Demultiplex_Stats.csv
-  RunInfo.xml
-  Trim_Metrics.csv
-  fastq_list.csv
-  SampleSheet.csv
-  Index_Hopping_Counts.csv
-  Top_Unknown_Barcodes.csv

 **Read1InstrumentAnalyticsMetrics** : ペアエンドリードの場合のみ。



 **0001**

-  dataset.json

 **0002**

-  dataset.json
-  Adapter_Metrics.csv
-  Demultiplex_Stats.csv
-  Index_Hopping_Counts.csv

 **Read1Metrics** : ペアエンドリードの場合のみ。

-  Adapter_Metrics.csv
-  Index_Hopping_Counts.csv

メンテナンス

このセクションでは、正常なシステムを維持するために必要な手順について説明します。ソフトウェアアップデートのインストール方法、エアフィルターの交換方法、その他の定期的なメンテナンス手順の実施方法について記載されています。コントロールソフトウェアを最新の状態に保つことで、最新のバグ修正および機能がシステムにインストールされ、最適な性能が得られます。

ハードドライブスペースのクリア

シーケンスランを実行するには、ローカルハードドライブに最大 600 GB のスペースが必要になる場合があります。ハードドライブの空きスペースが少ないときは、警告通知が表示されます。ハードドライブのスペースを空けるには、以下の手順に従って完了したランとインストールされているリファレンスゲノムを一時的なランフォルダーから削除します。

! | ランの削除は、オペレーティングシステムを介して手動で行うのではなく、NextSeq 1000/2000 Control Software を使用して行ってください。手動でランを削除すると、コントロールソフトウェアに悪影響が及ぶ可能性があります。

1. コントロールソフトウェアのメニューから **[Disk Management]** を選択します。
[Disk Management] 画面が開き、ローカルハードドライブに保存されているランとリファレンスゲノムのリストが表示されます。
2. 削除するランに対して **[Delete Run]** を選択します。
ランを削除すると、ローカルのランフォルダーが削除されます。ランフォルダーのコピーである出力フォルダーは残ります。
3. ダイアログボックスで **[Yes, Delete Run]** を選択してランの削除を確定します。
4. 削除する各ランについて、ステップ 2 と 3 を繰り返します。
5. 削除するゲノムに対して **[Delete Genome]** を選択します。
6. ダイアログボックスで **[Yes, Delete Genome]** を選択します。
7. 削除する各ゲノムについて、ステップ 5 と 6 を繰り返します。
8. 終了したら、[Disk Management] を閉じて [Home] 画面に戻ります。

ソフトウェアのアップデート

ソフトウェアをアップデートすると、最新の機能やバグ修正がシステムにインストールされます。ソフトウェアのアップデートはシステムスイートにまとめられています。これには以下のソフトウェアが含まれます。

- NextSeq 1000/2000 Control Software
- NextSeq 1000/2000 recipes
- Universal Copy Service
- Real-Time Analysis

i | DRAGEN モジュールはシステムスイートに含まれません。必要に応じて個別にインストールしてください。ただし、BCL 変換モジュールには中核的な DRAGEN ソフトウェアが含まれているため、このモジュールを最初にインストールする必要があります。DRAGEN モジュールソフトウェアにはサポートページからアクセスします。

システム設定により、ソフトウェアのアップデートは自動または手動でダウンロードするように指定されています。

- **自動アップデート**：アップデートが BaseSpace Sequence Hub から自動的にダウンロードされ、インストールされます。このオプションを使用する場合はインターネット接続が必要ですが、BaseSpace Sequence Hub アカウントは必要ありません。
- **手動アップデート**：ウェブから手動でアップデートをダウンロードしてローカルまたはポータブルドライブに保存し、保存した場所からインストールを行います。このオプションを使用する場合、装置はインターネットに接続していなくてもかまいません。

自動でソフトウェアアップデートをインストール

1. シーケンスランや装置上の二次解析が進行中でないことを確認します。
2. ilmnadmin でログインします。
3. コントロールソフトウェアのメニューから [**Software Update**] を選択します。
自動アップデートが設定されているシステムでは、ソフトウェアのアップデートが入手可能になるとアラートが表示されます。
4. アップデートを確認するには、[**Check Online for Software Update**] を選択します。
5. [**Update Now**] を選択し、新しいバージョンのソフトウェアをダウンロードします。
ダウンロードが完了すると、コントロールソフトウェアが終了し、インストールウィザードが表示されます。
6. インストール確認メッセージが表示されるまで、インストールウィザードの指示に従います。
7. 確認メッセージを閉じます。
コントロールソフトウェアが自動的に再起動します。
8. ソフトウェアの再起動後にファームウェアのアップデートを求めるメッセージが表示された場合、アップデートを進めます。
ファームウェアのアップデート中は、装置の画面が黒くなります。アップデートが終了すると、完了メッセージが表示されます。
ファームウェアをアップデートした後は必ず装置を再起動します。[96 ページの「装置の再起動」](#)を参照してください。

i | インストールの開始後にアップデートをキャンセルすることはできません。アップデートをキャンセルできるのはダウンロード中のみです。

手動でソフトウェアアップデートをインストール

1. ilmnadmin でログインします。
2. シーケンスランや装置上の二次解析が進行中でないことを確認します。
3. ソフトウェアアップデートが入手可能な場合、[NextSeq 1000/2000 システムサポートページ](#)からスイートインストーラー (*.tar.gz) をダウンロードします。インストーラーをローカルまたはポータブルドライブに保存します。
4. インストーラーをポータブルドライブに保存した場合、装置の側面および背面にある USB 3.0 ポートにこのドライブを接続します。
5. コントロールソフトウェアのメニューから **[Software Update]** を選択します。
6. **[Choose...]** を選択し、インストーラーの場所に移動します。
7. **[Update Now]** を選択してインストールを開始します。
インストール中はビジーインジケータが表示されます。インストールが完了すると、インストール確認メッセージが表示されます。
8. 確認メッセージを閉じます。
コントロールソフトウェアが自動的に再起動します。
9. ソフトウェアの再起動後にファームウェアのアップデートを求めるメッセージが表示された場合、アップデートを進めます。
ファームウェアのアップデート中は、装置の画面が黒くなります。アップデートが終了すると、完了メッセージが表示されます。
ファームウェアをアップデートした後は必ず装置を再起動します。[96 ページの「装置の再起動」](#)を参照してください。

i | インストールの開始後にアップデートをキャンセルすることはできません。アップデートをキャンセルできるのはダウンロード中のみです。

DRAGEN のワークフローおよびライセンスのアップデート

DRAGEN ワークフローのインストールと DRAGEN ライセンスの更新ができるのは、システム管理者のみです。装置には無料の DRAGEN ライセンスが付属しています。DRAGEN ライセンスについて問題がある場合は、カスタマーケアにお問い合わせください。

オンラインでの DRAGEN ワークフローのインストール

NextSeq 1000/2000 がインターネットに接続されている場合は、NextSeq 1000/2000 Control Software で直接、DRAGEN ワークフローをインストールできます。オンラインで DRAGEN ワークフローをインストールできるのは、NextSeq 1000/2000 Control Software v1.3 以降のみです。

1. コントロールソフトウェアのメニューを選択し、**[Process Management]** を選択します。
2. シーケンスランや装置上の二次解析が進行中でないことを確認します。

3. コントロールソフトウェアのメニューを選択し、**[DRAGEN]** を選択します。
[Version] の [Available Workflows] セクションに、システムに現在インストールされているワークフローが一覧表示されます。
4. NextSeq 1000/2000 Control Software で DRAGEN ワークフローをインストールするには、**[Check Online]** を選択します。
DRAGEN のバージョンやワークフローによっては、オンラインでのインストールに対応していない場合があります。その他のワークフローについてはオフラインでのインストールを使用してください。
5. インストールするワークフローのチェックボックスを選択します。最新バージョンの BCL 変換がインストールされていない場合は、必ずこのワークフローを最初にインストールしてください。
最新バージョンのワークフローに関する情報は、リリースノートで確認できます。
6. **[Install]** を選択してインストールを開始します。
7. ilmadmin パスワードを入力し、**[Authenticate]** を選択します。

オフラインでの DRAGEN ワークフローのインストール

1. DRAGEN ワークフローのアップデートが入手可能な場合、[NextSeq 1000/2000 システムサポートページ](#)からインストーラー (*.tar.gz) をダウンロードします。インストーラーをローカルまたはポータブルドライブに保存します。
2. インストーラーをポータブルドライブに保存した場合、装置の側面および背面にある USB 3.0 ポートにこのドライブを接続します。必要な場合は、背面にアクセスできるようにゆっくりと装置を動かします。
3. コントロールソフトウェアのメニューを選択し、**[Process Management]** を選択します。
4. シーケンスランや装置上の二次解析が進行中でないことを確認します。
5. コントロールソフトウェアのメニューを選択し、**[DRAGEN]** を選択します。
6. [Version] で **[Browse for New Version]** を選択し、インストーラーの場所に移動します。
7. **[Install]** を選択してインストールを開始します。
8. システムパスワードに「ilmadmin」と入力し、**[Authenticate]** を選択します。

エアフィルターの交換

以下の手順に従って、使用期限が切れたエアフィルターを 6 カ月ごとに交換します。

エアフィルターは使い捨ての長方形のカートリッジで、装置右側にあるファンをカバーしています。このフィルターにより、システムが適切に冷却され、システムへの異物の侵入が防止されます。エアフィルターは、最初から装置に 1 つ装着されており、予備のフィルターが 1 つ付属しています。追加の予備フィルターは有効な装置サービス契約に含まれており、サービス契約を結んでいない場合はイルミナから個別に購入できます。

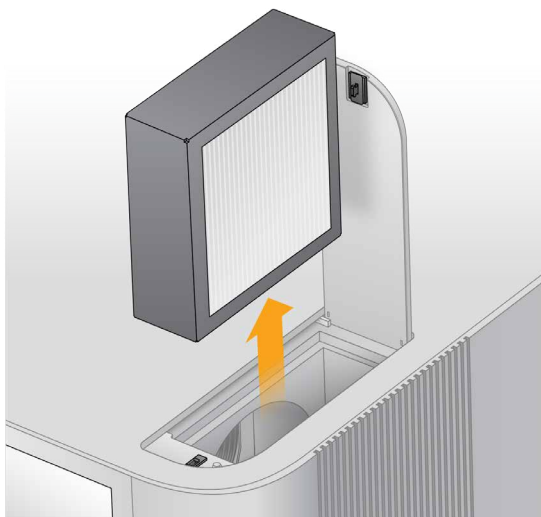
1. 装置上部の右側にあるパネルを下図のように押してロックを外します。



2. パネルを開きます。

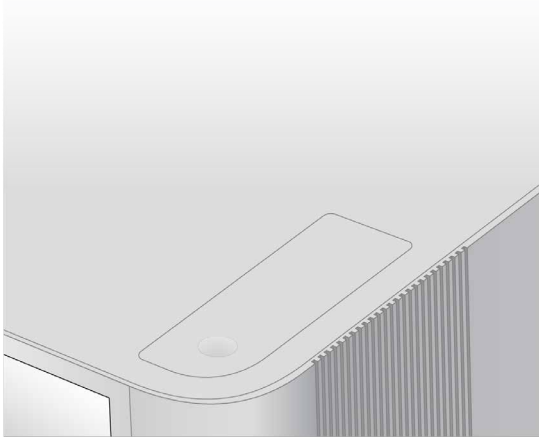


3. エアフィルターカートリッジを押し、固定を解除し、パネルの中央から取り出します。取り出したカートリッジは処分します。



4. 新しいエアフィルターを挿入し、押しして固定します。

5. 上部パネルを閉じ、押しして所定位置にはめ込みます。



6. 装置を元の状態に戻します。

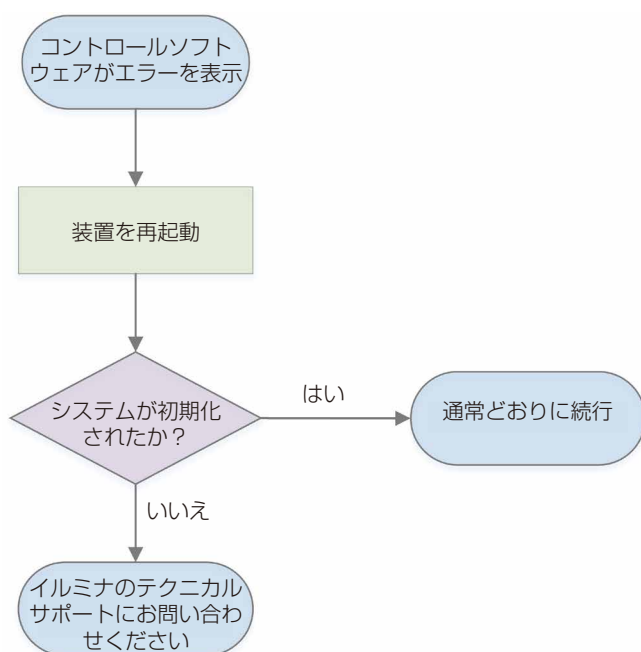
トラブルシューティング

このセクションでは、ランの取り直し、装置の再起動、その他のトラブルシューティングの手順をステップごとに説明します。

エラーメッセージの解消

この付録にはさまざまなトラブルシューティングステップの詳細な説明が記載されています。次のフローチャートは、エラーメッセージが初期化中、ランセットアップ中、またはシーケンス中に表示され、再試行しても解消されない場合のトラブルシューティングの概要を示しています。

エラーの多くは、装置の再起動（いったん電源を切って入れ直す）によって解消されます。装置の再起動の詳細については、[96 ページの「装置の再起動」](#)を参照してください。



消耗品を保管庫に戻す

プレランチェック中のフルイディクスチェックの前に装置のエラーが発生した場合は、以下の手順に従って融解したカートリッジとフローセルを保管します。

1. カートリッジからフローセルを外します。
2. リザーバーから希釈済みライブラリーを排出して廃棄します（最大～18 μ L）。

! リザーバー内に残っているライブラリーに対してサンプルのクロスコンタミネーションが起こらないようにするため、次のラン用に同じライブラリーの新しい希釈物を調製します。

- カートリッジを 2℃～ 8℃の保管庫に入れます。その際、ラベルを上に向けてすべての面を空気が循環するようにします。
72 時間を超えないようにしてください。100 サイクル、200 サイクル、または 300 サイクルのカートリッジを冷蔵庫で 12 時間かけて融解した場合は、60 時間を超えないようにします。600 サイクルのカートリッジを冷蔵庫で 16 時間かけて融解した場合は、56 時間を超えないようにします。
- フローセルを元の銀色のホイルパッケージに戻し、乾燥剤を入れます。
- ホイルパッケージをテープで封止し、2℃～ 8℃の保管庫に保管します。
72 時間を超えないようにしてください。

ランの取り消し

- [**End Run**] を選択します。
- 試薬カートリッジを自動的にパージするには、[**Purge Reagent Cartridge**] チェックボックスを選択します。
デフォルト設定は、NextSeq 1000/2000 Control Software の設定に従います。
- [**Yes, end the sequencing run**] を選択します。
ランの取り消しは終了を意味します。プレランチェックの装置チェック部分が終了した後は、ランを再開できず、消耗品は再利用できません。
- [**Eject Cartridge**] を選択してバイザーを開き、トレイを取り出します。
- トレイからカートリッジを取り出します。
- 取り消しを行った時点に応じて、カートリッジを保管または処分します。

状況	例
装置のプレランチェックの前またはプレランチェック中に取り消しを行い、消耗品を再利用する場合	94 ページの「消耗品を保管庫に戻す」を参照してください。
その他すべての場合	64 ページの「消耗品の取り出し」を参照してください。

- [**Close Door**] を選択し、トレイを再ロードして [Home] 画面に戻ります。
センサーによってカートリッジの取り出しが確認されます。

ランのリキュー

Process Management の [Status of Secondary Analysis] にエラーが表示された場合、ランをリキューして、生成された CBCL ファイルに対して装置上の DRAGEN による解析を再度実行できます。リキュー機能を使用するには、元のランフォルダーが装置に存在している必要があります。このリキュー機能を使用して、BaseSpace Sequence Hub 上のランをリキューすることはできません。BaseSpace Sequence Hub 上のランをリキューするには、『BaseSpace Sequence Hub Help Center』の「Fix Sample Sheet」を参照してください。

1. サンプルシート v2 を更新し、ポータブルドライブまたはマウントされたネットワークドライブに保存します。
2. サンプルシートをポータブルドライブに保存した場合、装置の側面および背面にある USB 3.0 ポートにこのドライブを接続します。必要な場合は、背面にアクセスできるようにゆっくりと装置を動かします。
3. コントロールソフトウェアのメニューを選択し、**[Process Management]** を選択します。
4. シーケンスランや装置上の二次解析が進行中でないことを確認します。
5. リキューする完了済みランの横の **[Requeue]** を選択します。
6. **[Choose]** を選択し、更新したサンプルシートの場所へ移動して **[Open]** を選択します。
7. **[Start Requeue]** を選択します。

装置の再起動

装置を再起動すると、システムが安全にシャットダウンしてから再始動します。これは、切断した接続の回復、仕様の調節、初期化時の不具合の解決に役立ちます。ソフトウェアのメッセージは、エラーまたは警告を解決するために再起動すべきタイミングを示します。

1. コントロールソフトウェアのメニューから **[Shut Down Instrument]** を選択します。
2. システムがシャットダウンしない場合は、装置右側の電源ボタンを光が消えるまで押し続けます。
3. 電源ボタンが点滅したら、背面パネルにあるトグルスイッチの電源オフ側（**O**）を押します。電源をオフにした後、電源ボタンが点滅し続ける場合があります。

図 8 トグルスイッチの位置



4. 30 秒待ちます。
5. トグルスイッチの電源オン側（**I**）を押します。

6. 電源ボタンが点滅したら、30 秒待ってから、電源ボタンを押します。

図 9 電源ボタンの位置



7. オペレーティングシステムがロードされるまで、5 分ほど待ちます。オペレーティングシステムがロードされたら、システムにログオンします。
コントロールソフトウェアが起動し、システムが初期化されます。システムが初期化されるまで、5 分ほど待ちます。初期化が完了するとホーム画面が表示されます。

システムチェックの実施

正常に動作しているときや装置のメンテナンスのためにシステムチェックを行う必要はありません。ただし、トラブルシューティングの目的でイルミナテクニカルサポートの担当者からシステムチェックを実施するよう求められることがあります。

プレランチェックのエラーやその他の問題を解決するために、4 つのサブシステムを約 58 分でチェックします。これらのテストは、コンポーネントが適切に調整されていて正しく機能するかどうかを確認します。

テスト結果は、`/usr/local/illumina/system-check` にある `system-check` フォルダに出力されます。

システムチェックを実行する前にカートリッジを必ず取り出してください。

システムチェックの実行

1. コントロールソフトウェアのメニューから **[System Check]** を選択します。
2. 以下のシステムチェックの中から、実施する項目のチェックボックスを選択します。
 - **Network Connectivity** : ネットワークの接続状態とパフォーマンスをチェックします。
 - **Enclosure** : 熱システムとバイザーの持ち上げ機構の性能をチェックします。
 - **Motion** : Z ステージと XY ステージの移動範囲と性能をチェックします。
 - **Optics** : イメージングモジュールの性能をチェックします。
3. **[Start]** を選択します。

工場出荷時の設定に戻す

システムを工場出荷時の設定に戻すことで、ソフトウェアのダウングレードや望ましくない設定からの回復を行うことができます。この機能は、イルミナ担当者のみが使用します。

インストール済みイメージの取得

正常に動作しているインストール済みソフトウェアのバックアップを作成するために、システムイメージを取得します。このシステムイメージは後で回復できます。イルミナ担当者が初期インストールを完了してパスワードを変更した直後にシステムイメージを取得することを推奨します。

1. Linux を再起動します。
2. オペレーティングシステムを選択するよう求められたら、**[Capture Installed Image]** を選択します。このオペレーティングシステムのオプションは、NextSeq 1000/2000 Control Software に自動的に進む前に短時間だけ表示されます。
i | メモリー内に保持できるイメージは1つだけであるため、新しくイメージを取得すると、以前に取得したイメージは上書きされます。
3. 現在インストールされているイメージの取得が完了するまで、30分ほど待ちます。イメージの取得中に数回リブートする場合があります。完了すると、メモリー内に保存された現在のインストール済みイメージによってシステムがリブートします。

取得したイメージの回復

以前に取得したイメージにシステムを回復することで、望ましくない設定から回復することができます。

1. Linux を再起動します。
2. オペレーティングシステムを選択するよう求められたら、**[Restore Installed Image]** を選択します。このオペレーティングシステムのオプションは、NextSeq 1000/2000 Control Software に自動的に進む前に短時間だけ表示されます。
i | パスワードはシステムイメージに関連付けられています。回復後は、回復したイメージのパスワードを使用してシステムにログオンします。
3. 回復が完了するまで30分ほど待ちます。回復中に数回リブートする場合があります。完了すると、回復したイメージによってシステムがリブートします。

リソースおよび参考資料

イルミナサポートサイトの NextSeq 1000/2000 システムのページで、追加のシステムリソースが提供されています。これらのリソースには、ソフトウェア、トレーニング、適合製品、および以下の添付資料が含まれます。サポートページを定期的に確認して最新バージョンを入手してください。

リソース	内容説明
Custom Protocol Selector	ご使用になるライブラリー調製法、ランパラメーター、および解析方法と、詳細な設定を調整するためのオプション。
『Illumina Adapter Sequences』 (文書番号：1000000002694)	イルミナライブラリー調製キットのアダプターシーケンスの一覧表を提供します。
『Illumina Instrument Control Computer Security and Networking』 (文書番号：1000000085920)	シーケンスシステムに搭載された制御コンピューターのセキュリティを管理するためのガイドライン。これらのガイドラインに従ってシステムを設定し、より安全な動作環境を確保します。
『Index Adapters Pooling Guide』 (文書番号：1000000041074)	プーリングガイドラインとデュアルインデックスの方法について説明しています。
『RFID Reader Module Compliance Guide』 (文書番号：1000000002699)	装置の RFID リーダー、コンプライアンス認証、安全性検討事項に関する情報を提供します。

ダークサイクルシーケンス

このセクションでは、レシピでダークサイクルシーケンスを使用する方法について説明します。

イルミナサポートサイトの NextSeq 1000/2000 システムのページで、使用する試薬キット用のカスタムレシピが提供されているかどうかを確認してください。提供されていない場合は、テクニカルサポートにお問い合わせください。

ダークサイクルシーケンスは、シーケンスサイクルのケミストリーステップのみを実施する場合に使用します。イルミナサポートサイトで使用するライブラリー調製キットの Compatible Products ページを参照して、ダークサイクルシーケンスが必要かどうかを確認してください。

ダークサイクルシーケンスを使用するには、以下の手順に従います。

レシピファイルの編集

1. [イルミナサポートサイト](#)の NextSeq 1000/2000 システムのページからレシピ XML ファイルをダウンロードします。

2. レシピ XML ファイルを編集します。

- a. 使用するリードおよびインデックスシーケンスの設定に基づいて、該当するプロトコールセクションを特定します。カスタムレシピで編集可能なプロトコールは 6 つあります。例えば、インデックスシーケンス設定を持たないシングルリード 1 に対応するプロトコールは、

```
<Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index" >です。
```

- b. `<ReadRef ReadName="Read 1"/>` および `<ReadRef ReadName="Read 2"/>` より前に、ダークサイクルステップを示す次の行を入力します。

```
<DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />
```

- c. 必要なすべてのダークサイクルについて、ダークサイクルステップの行を入力します。

3. レシピ XML ファイルを保存します。

ダークサイクルを含むサンプルレシピを以下に示します。

```
<Protocol Name="1 Read 0 Index" ProtocolType="1Read0Index" >
  <ChemistryRef ChemistryName="Start" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
  <ChemistryRef ChemistryName="BIX Mixing" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
  <ChemistryRef ChemistryName="ExAmp Transfer" />
  <ChemistryRef ChemistryName="ExAmp Mixing" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
  <Obdd ChemistryName="Library Denaturation and Dilution" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Prime Cartridge" />
  <Obcg ChemistryName="Cluster Generation" />
  <ChemistryRef ChemistryName="SBS Prime" />
  <ChemistryRef ChemistryName="Read Prep" />
  <DarkCycle ChemistryName="Dark Cycle Before First Base" />
  <ReadRef ReadName="Read 1" />
  <SetThermalZoneTemp Enable="false" Zone="FlowCellHeater" />
</Protocol>
<Protocol Name="1 Read 1 Index" ProtocolType="1Read1Index" >
  <ChemistryRef ChemistryName="Start" />
  <ChemistryRef ChemistryName="2min 60C Vacuum Hold" />
  ...
```


ランへのレシピの添付

1. コントロールソフトウェアの [Run Setup] で、[Custom Recipe] の [**Choose**] を選択します。
2. 更新したレシピ XML ファイルの場所に移動します。
3. [**Open**] を選択します。
4. [59 ページの「シーケンスランの開始」](#)に戻ります。

サンプルシート v2 のリソース

イルミナの装置、プラットフォーム、および解析パイプラインでの v2 サンプルシート (*.csv) ファイルの使用に関する詳細については、[オンライン上の Sample Sheet v2 のページ](#)を参照してください。

改訂履歴

文書番号	日付	変更内容
200027171 v02	2023 年 5 月	カスタムプライマーの使用に関する指示を明確化。 優先イーサネットポートに関するガイダンスを更新。 デフォルト出力フォルダーの場所のオプションを NextSeq 1000/2000 Control Software v1.5.0 に合わせて更新。 SMB/CIFS および NFS のマウント手順を NextSeq 1000/2000 Control Software v1.5.0 に合わせて更新。 サンプルシート v2 に関する内容を再編成し、『Sample Sheet v2 Resource』（文書番号：200017024）を参照するように変更。
200027171 v01	2022 年 12 月	消耗品のロード手順を明確化。 ダークサイクルシーケンスのカスタムレシピに関する指示を更新。 サポートされているネットワークドライブのマウント方式に関する情報を拡充。
200027171 v00	2022 年 11 月	初版リリース。HTML 形式を追加し、NextSeq 1000 および 2000 の『Denature and Dilute Libraries Guide』、『Custom Primers Guide』、『System Guide』、『Safety and Compliance Guide』、および『Site Prep Guide』を統合。この統合の結果として、以下の文書は廃止されました。 <ul style="list-style-type: none"> • 『NextSeq 1000 and 2000 Denature and Dilute Libraries Guide』（文書番号：1000000139235） • 『NextSeq 1000 and 2000 Sequencing System Custom Primers Guide』（文書番号：1000000139569） • 『NextSeq 1000 and 2000 Sequencing System Guide』（文書番号：1000000109376） • 『NextSeq 1000 and 2000 Sequencing System Safety and Compliance Guide』（文書番号：1000000111928） • 『NextSeq 1000 and 2000 Sequencing System Site Prep Guide』（文書番号：1000000109378）



イルミナ株式会社
東京都港区芝 5-36-7
三田ベルジュビル 22 階
サポート専用フリーダイヤル
0800-111-5011
techsupport@illumina.com
jp.illumina.com

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。
© 2023 Illumina, Inc. All rights reserved.

illumina®