

illumina®

iSeq 100 Sequencing System

Product Documentation

ILLUMINA PROPRIETARY

文書番号：1000000036024 v09 JPN

2021年11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。

本文書には、イルミナのシーケンステクノロジーで使用されるイルミナオリゴヌクレオチドから成るヌクレオチドシーケンスが記載されています。これらのシーケンスは、シーケンス実験の結果を理解および公開する目的のためにのみ提供されています。

イルミナの所有物

オリゴヌクレオチドは、イルミナの所有物です。それらの製造、使用、およびシーケンス情報は、取得済みまたは出願中の特許、著作権、および営業秘密などの知的財産によって保護されています。イルミナは、以下に厳密に制限された許可されている場合を除き、オリゴヌクレオチドおよびそれらのシーケンス情報に関するすべての権利を留保します。

ほとんどのイルミナオリゴヌクレオチドは、イルミナの装置に使用したときに有効かつ最適な性能を発揮するように、当社独自の方法により特別に組み換えられて精製されています。イルミナは、これらのオリゴヌクレオチドの唯一の正規サプライヤーです。イルミナが非正規サプライヤーから提供されている試薬の品質、組成、または互換性を制御することはできません。非正規の試薬を用いて行われた実験について当社がトラブルシューティングを実施したり、その他のサポートを提供したりすることはできません。また、このような試薬を用いてイルミナ製品を使用した場合、イルミナ製品の性能を保証することはできません。

制限付きの許可

お客様によるシーケンス情報の複製または配布は、お客様の施設内でイルミナの装置ならびに関連する機器、消耗品、およびソフトウェアに使用する場合にのみ許可されています。以下の場合を除き、お客様がこれらの情報をお客様の施設外で複製または配布することはできません。

以下の著作権表示を含めている場合は、シーケンス情報をお客様の施設外で配布したり、それらをお客様が作成したプレゼンテーション、原稿、または書籍で公開したりできます。

Oligonucleotide sequences © 2021 Illumina, Inc. All rights reserved.

本文書に含まれているシーケンス情報を変更または改良し、変更したシーケンスを配布または公開する場合、以下の著作権表示を含める必要があります。

Oligonucleotide sequences © 2021 Illumina, Inc. All rights reserved. イルミナのお客様により作成された派生著作物は、イルミナの装置および製品にのみ使用することが許可されています。その他のすべての使用は、厳密に禁止されています。

シーケンス情報のその他のすべての使用またはカスタムオリゴヌクレオチドに関するご質問については、イルミナまでお問い合わせのうえ、必要になる許可またはライセンスについてご相談ください。

© 2021 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
システムコンポーネント.....	3
iSeq 100 i1 Reagent	7
システム構成	12
コントロールソフトウェアの最小化.....	12
ランの設定.....	13
装置のカスタマイズ	16
ネットワークの設定	17
シーケンス	20
フローセルとライブラリーの準備.....	22
消耗品のカートリッジへのロード.....	25
シーケンスランの設定 (Local Run Manager)	27
シーケンスランの設定 (Manualモード)	30
メンテナンス	35
ソフトウェアのアップデート	38
シーケンスの出力	40
出力ファイル	42
ベースコーリング.....	44
トラブルシューティング	45
エラーメッセージの解消.....	50
漏れの緩和.....	51
事前交換	52
オリジナルシステムの返品準備	53
オリジナルシステムの返品.....	56
リソースおよび参考資料	58

システムの概要

Illumina iSeq 100 システムでは、次世代シーケンス（NGS）において、目的を絞ったアプローチが可能です。アプリケーションに特化したこのシステムは、イルミナのシーケンステクノロジーをコスト効率のよいベンチトップ型システムに集約しています。

機能

- **手軽さと信頼性**：iSeq 100 は小さな装置サイズで設置と使用方法が簡単です。フルディスクおよび画像取得用コンポーネントが消耗品内に構成されているため、装置のメンテナンスが簡単です。
- **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既に充填されています。ライブラリー、カスタムプライマー、およびセンサー付きのフローセルをカートリッジ装填した後、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、消耗品の正確な追跡が可能です。
- **iSeq 100 ソフトウェア**：統合されたソフトウェアパッケージは装置の動作を制御し、イメージを処理し、ベースコールを生成します。このパッケージには、装置上でのデータ解析と装置外におけるデータ解析を実施するためのデータ転送ツールの機能があります。
 - **装置上の解析**：Local Run Manager は指定した解析モジュールを使い、入力したサンプル情報に基づいてランデータを解析します。本ソフトウェアは解析モジュールパッケージが含まれます。
 - **クラウドベースの解析**：シーケンスワークフローは BaseSpace Sequence Hub（ランモニタリング、データ解析、保存、共有のためのイルミナのクラウドコンピューター環境）と統合されます。出力ファイルは解析のためにリアルタイムで BaseSpace Sequence Hub に転送されます。

サンプルから解析まで

次の図は、実験デザインからデータ解析までの全体のシーケンスワークフローを図示しています。ツールおよび添付資料が各ステップに含まれています。本ガイドはライブラリーのシーケンス実行手順についても網羅しています。イルミナ [サポートサイト](#) の iSeq 100 システムサポートページでは追加のリソースを提供しています。

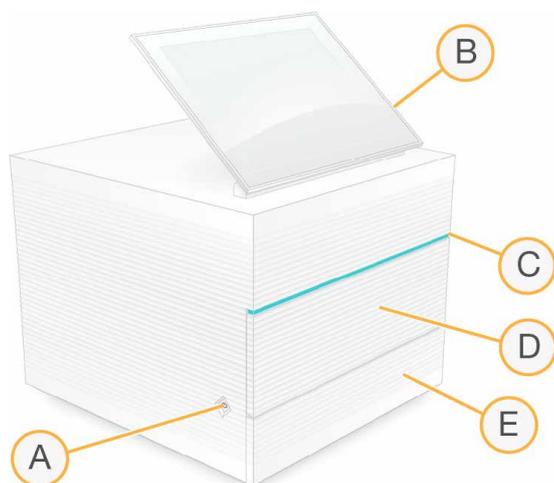
図 1 サンプルから解析までのワークフロー

- 1 アクセシをデザイン (オプション)**
サポートされているライブラリータイプに対するカスタムのターゲットパネルを作成。
ツール：DesignStudio ソフトウェア
添付資料：『DesignStudio Online Help』
- 2 サンプル情報の入力**
サンプル表を追加し、インデックスを選択し、シーケンスランをセットアップ。
ツール：Local Run Manager ソフトウェア
添付資料：『Local Run Manager Software Guide』
- 3 ライブラリーの調製**
インプット DNA または RNA からシーケンス可能なライブラリーを調製。
ツール：ライブラリー調製キット
添付資料：お使いのライブラリー調製キットの参照ガイドおよび『Index Adapters Pooling Guide』
- 4 ライブラリーのシーケンス**
ライブラリーの希釈、シーケンス用消耗品の準備、およびランの実行。
ツール：iSeq 100 システムおよび iSeq 100 i1 Reagent
添付資料：本システムガイド
- 5 データ解析**
シーケンス出力をローカルまたはクラウドで解析。
ツール：Local Run Manager (ローカルソフトウェア) または BaseSpace Sequence Hub (クラウドベースソフトウェア)
添付資料：『Local Run Manager Software Guide』 または 『BaseSpace Sequence Hub Online Help』

システムコンポーネント

iSeq 100 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およびドリップトレイから構成されています。

図 2 外部システムコンポーネント



- A. **電源ボタン**: 装置の電源をコントロールし、システムがオン (点灯)、オフ (消灯)、または AC 電源が入ったままのオフ (点滅) を示します。
- B. **タッチスクリーンモニター**: iSeq 100 Control Software インターフェースによりシステムの設定およびセットアップができるようにします。
- C. **ステータスバー**: システムステータスを示し、シーケンスの準備ができる状態は緑、処理中は青、注意が必要な場合はオレンジになります。
- D. **消耗品コンパートメント**: ラン中の消耗品を格納します。
- E. **ドリップトレイドア**: 漏れた液体を受け止めるドリップトレイにアクセスします。

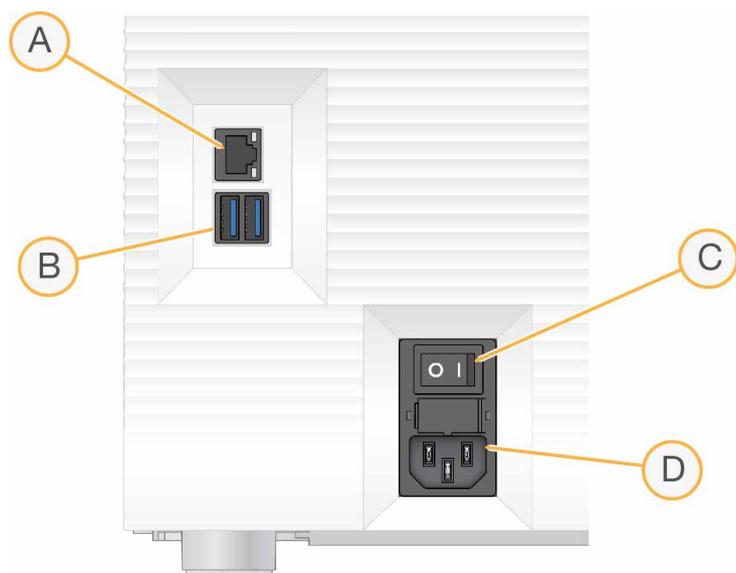
電源と補助装置の接続

装置を移動して、USB ポートおよび他の背面パネルコンポーネントにアクセスすることができます。

装置の背面にはスイッチと装置の電源を制御するインレット、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があります。2 つの USB ポートは、マウスとキーボードの接続や、データのアップロードおよびダウンロードを行うためのポータブルデバイスの接続に使用できます。

i | システムをキーボードとマウスに接続すると、スクリーンキーボードが無効になります。

図 3 背面パネルコンポーネント

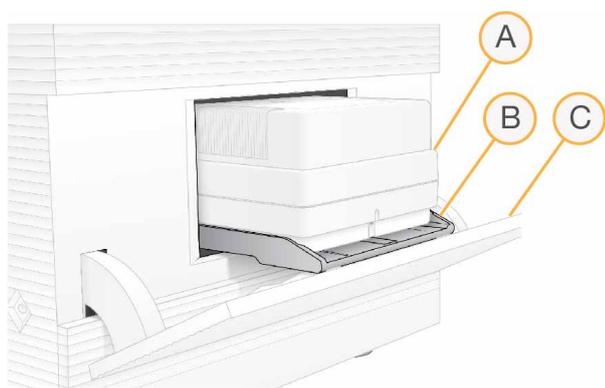


- A. **イーサネットポート**：オプションのイーサネットケーブル接続用です。
- B. **USB ポート**：補助的なコンポーネントを接続するために 2 ポートあります。
- C. **トグルスイッチ**：装置の電源のオンとオフを行います。
- D. **AC 電源インレット**：電源コードの接続用です。

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用のカートリッジを入れます。

図 4 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、試薬を含み、ラン中の廃液を回収します。
- B. **トレイ**：シーケンス中にカートリッジを保持します。
- C. **ドア**：60 度の角度に開き、消耗品コンパートメントにアクセスできます。

コンパートメントドアの開閉およびイメージ取得のためカートリッジの所定の位置への移動は iSeq 100 Control Software が制御します。ドアは装置の下部に向けてヒンジから下に開きます。開いたドアの上に物を置かないでください。コンパートメントのドアは棚として使用する作りにはなっていません。

再使用可能テスト用フローセルおよび再使用可能テスト用カートリッジ

システムチェックで使用するため、本装置は再使用可能テスト用コンポーネント（iSeq 100 再使用可能テスト用フローセルおよび iSeq 100 再使用可能テスト用カートリッジ）と一緒に配送されています。元の梱包に入れて室温で保管してください。130 回まで使用できます。システムチェックの間、ソフトウェアに残り使用回数が表示されます。

図 5 再使用可能テスト用コンポーネント



- A. 再使用可能テスト用フローセル
- B. 再使用可能テスト用カートリッジ

再使用可能テスト用コンポーネントは iSeq 100 i1 Reagent kits で提供されるシーケンス用コンポーネントと似ており、ローディング方向は同じです。しかし、再使用可能テスト用カートリッジはライブラリーリザーバーがなく、どちらの再使用可能テスト用コンポーネントもランに必要なケミストリーは含まれません。

再使用可能テスト用コンポーネントは、製造日から 5 年で有効期限が切れます。有効期限が切れるか、最大使用回数に達した再使用可能テスト用コンポーネントは交換してください。

システムソフトウェア

システムソフトウェアパッケージには、シーケンスランおよび装置上の解析を実行するアプリケーションが統合されています。

- **iSeq 100 Control Software** : 装置の動作を制御し、システム設定、シーケンスランセットアップ、シーケンス進行に伴うランメトリクスへのモニタリングに対するインターフェースを提供します。
- **Local Run Manager** : シーケンス前のランパラメーターおよび解析方法を定義します。シーケンス後、装置上のデータ解析を自動で開始します。
 - 本システムは DNA Amplicon, RNA Amplicon, および Generate FASTQ 解析モジュールがインストールされた状態で配送されます。
 - 本システムは DNA Enrichment および Resequencing 解析モジュールもサポートしており、これらのモジュールは [Local Run Manager サポートページ](#) から入手できます。
 - Local Run Manager および解析モジュールの詳細については、『Local Run Manager Software Guide』(1000000002702) を参照してください。

- **Real-Time Analysis (RTA)** : ラン実行中にイメージ解析およびベースコーリングを実施します。詳細については、[40 ページの「シーケンスの出力」](#) を参照してください。
- **Universal Copy Service** : ランフォルダーから、BaseSpace Sequence Hub（該当する場合）および出力フォルダーにシーケンス出力ファイルをコピーします。

Real-Time Analysis および Universal Copy Service はバックグラウンド処理のみ実行します。Local Run Manager および iSeq 100 Control Software コントロールソフトウェアはユーザー入力が必要です。

システム情報

コントロールソフトウェアメニューの [About] セクションから、イルミナ問い合わせ情報および次のシステム情報を確認することができます。

- シリアルナンバー
- コンピューター名および IP アドレス
- レシピフラグメントバージョン
- ラン数

注意事項およびアラート

装置名の隣に表示されたアイコンは、注意事項を表示します。アイコンを選択し、警告およびエラーを含む注意事項のリストを表示します。

- 警告は赤色の丸のアイコンで示されます。警告は注意する必要がありますが、ランを中断せず、承認以外の対処を必要としません。
- エラーは黄色の三角形のアイコンで示されます。エラーはランを開始または継続するために、何らかの対処を必要とします。

ランセットアップ画面左側のパネルには、カートリッジのロードおよびプレランチェックに関するアラートが表示されます。

図 6 画面上の位置



- ランセットアップアラート
- その他の注意事項

Process Management

[Process Management] 画面は、名前、ID および日付からそれぞれのランを特定し、ハードドライブ (D ドライブ) スペースおよびランステータスを表示します。画面は 3 分ごとに自動的に更新されます。

[Status] 列は、BCL ファイルの処理状況に基づいて、ランが進行中または完了したことを示します。各ランに対して、[Process Management] は Universal Copy Service、BaseSpace Sequence Hub、および Local Run Manager のバックグラウンド処理の状況も表示します。

該当しないプロセスは画面には表示されません。例えば、ランが BaseSpace Sequence Hub に接続されていない場合は、[Process Management] はそのランに対する BaseSpace Sequence Hub のステータスを表示しません。

- ステータス問題をトラブルシュートするためには、[50 ページの「Process Management Status」](#)を参照してください。
- ランを削除し、スペースを空けるためには、[35 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。

Universal Copy Service のステータス

Universal Copy Service 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を表示します。

- **In Progress** : Universal Copy Service が出力フォルダーにファイルをコピー中です。
- **Complete** : Universal Copy Service が出力フォルダーにすべてのファイルを問題なくコピーしました。

BaseSpace Sequence Hub のステータス

BaseSpace Sequence Hub はアップロードステータスを表示します。

- **In Progress** : コントロールソフトウェアが BaseSpace Sequence Hub にファイルをアップロード中です。
- **Complete** : BaseSpace Sequence Hub にすべてのファイルを問題なくアップロードしました。

Local Run Manager のステータス

Local Run Manager はコントロールソフトウェアの解析ステータスを表示します。

- **Not Started** : 解析の開始を待機している状態、または Local Run Manager が Real-Time Analysis の完了を待っている状態です。
- **In Progress** : Local Run Manager がファイルを解析しています。さらに詳細なステータスについては Local Run Manager ソフトウェアを確認してください。
- **Stopped** : 解析は停止していますが、完了していません。
- **Complete** : Local Run Manager が解析を問題なく完了しました。

解析ステータスに関する詳細については、Local Run Manager ソフトウェアを確認してください。

iSeq 100 i1 Reagent

iSeq 100 でランを行うには、使い捨ての試薬キットである iSeq 100 i1 Reagent kits が必要です。キットは 1 サイズ (300 サイクル) であり、3 種類のセットがあります。

- **1 pack** : ラン 1 回分の消耗品が提供されます。
- **4 pack** : ラン 4 回分の消耗品が提供されます。
- **8 pack** : ラン 8 回分の消耗品が提供されます。

ソフトウェアの互換性

試薬を融解しランをセットアップする前に、システムがキットと互換性のあるソフトウェアバージョンにアップグレードされていることを確認してください。アップグレード手順については、[38 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。

キット	互換性のあるソフトウェア
iSeq 100 i1 Reagent v2 kits	iSeq 100 Control Software v2.0 以降

サポートされるサイクル数

カートリッジの 300 サイクルのラベルは、解析可能なサイクル数を示しており、実施するサイクル数を示していません。そのため、カートリッジには最大 322 サイクルのシーケンスのために十分な量の試薬が入っています。

322 サイクルには、Read 1 および Read 2 それぞれ 151 サイクルと、Index 1 および Index 2 それぞれ 10 サイクルまでが含まれます。シーケンスを行うためのサイクル数について詳しくは、[21 ページの「推奨されるサイクル数」](#)を参照してください。

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互換性があります。

記号説明

次の表は消耗品または消耗品のパッケージに関する記号を記載しています。

記号	内容説明
	消耗品の使用期限。最良の結果を得るには、この日付より前に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）。
	消耗品を識別することができる部品番号を示しています。

記号	内容説明
	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ています。
	健康に有害であることを示しています。
	保存温度は摂氏温度の範囲です。示した範囲内で消耗品を保存します。

REF は個々のコンポーネントを識別するのに対し、LOT はコンポーネントが属するロットまたはバッチを識別します。

キットの内容物および保管要件

iSeq 100 i1 Reagent kits 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。

セット	コンポーネント	数量	保管温度
1 pack	カートリッジ	1	-25°C ~ -15°C
	フローセル	1	2°C ~ 8°C*
4 pack	カートリッジ	4	-25°C ~ -15°C
	フローセル	4	2°C ~ 8°C*
8 pack	カートリッジ	8	-25°C ~ -15°C
	フローセル	8	2°C ~ 8°C*

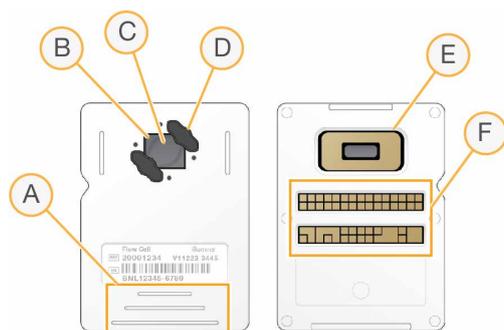
* 室温で配送されます。

適切なパフォーマンスを得るために、iSeq 100 i1 Reagent kits を受け取ったら直ちに以下に示す適切な保管条件でキットの構成部品を保管してください。

- 表示されている温度で保管してください。
- 指示があるまで、白いホイルパッケージを開けないでください。カートリッジは袋に入れたまま融解します。
- カートリッジはパッケージのラベルを上にして置きます。**
- ウォーターバスで融解する前に、最低 1 日はカートリッジを保管します。

フローセル

iSeq 100 i1 フローセルは、相補型金属酸化膜半導体 (CMOS) 光学センサー上に構築された、シングルレーンのパターン化フローセルです。プラスチックカートリッジでガラス製のフローセルを保護しています。プラスチック上にある凸部のグリップポイントにより安全に取り扱ようになります。



- A. グリップポイント
- B. CMOS センサー（上部）
- C. イメージ取得領域
- D. ガasket（2 個のうちの 1 個）
- E. CMOS センサー（下部）
- F. 電気的インターフェース

数百万個のナノウェルがフローセルの表面を覆っています。ナノウェル内でクラスターを形成後、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ため出力リードとデータが増加します。シーケンスの間、CMOS センサーが解析用のイメージを取得します。

互換性とトラッキングのため、フローセルは電気的インターフェースである、電気的消去可能プログラマブル ROM (EEPROM) を使用しています。

カートリッジ

iSeq 100 i1 のカートリッジには、クラスター試薬、シーケンス試薬、ペアエンド試薬およびインデックス試薬が既に充填されています。ホイルでシールされたリザーバーはライブラリーおよびカスタムプライマー用に確保されており、正面のスロットはフローセル用に確保されています。励起光はカートリッジ上部のアクセスウィンドウを通してフローセルに照射されます。



- A. アクセスウィンドウ
- B. フローセルスロット
- C. ライブラリーリザーバー

カートリッジには、ランに必要なすべての消耗品（試薬、ライブラリーおよびフローセル）を装備できます。ライブラリーとフローセルを融解したカートリッジにロードした後、カートリッジを装置にロードします。無線自動識別（RFID）によって互換性が確保され、確実にトラッキングができます。

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送液されます。カートリッジ下部のリザーバーは使用済み試薬を回収します。カートリッジにはポンプ、バルブ、システム用の他のすべての流路系が含まれています。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。

システム構成

システムを初めて開始するとき、iSeq 100 Control Software が一連の画面を表示し、初回セットアップを手引きします。初回セットアップには、装置性能を確認するシステムチェックの実施、システム設定を変更する方法が含まれます。

初回セットアップ後にシステム設定を変更する場合は、コントロールソフトウェアで [System Settings] コマンドを選択します。コマンドを実行すると、[Settings]、[Network Access]、[Customization] タブが開き、すべてのコントロールソフトウェア設定と Windows のネットワーク設定にアクセスできます。

オペレーティングシステムのアカウント

Windows オペレーティングシステムには管理者 (sbsadmin) およびスタンダードユーザー (sbsuser) の2つのアカウントがあります。オペレーティングシステムでは、初回ログイン時に両方のアカウントのパスワード変更が必要です。

管理者アカウントは IT の使用、システムアップデート、ならびにコントロールソフトウェア、Local Run Manager 解析モジュールおよびその他のソフトウェアのインストールを目的としています。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。

バリデーションラン

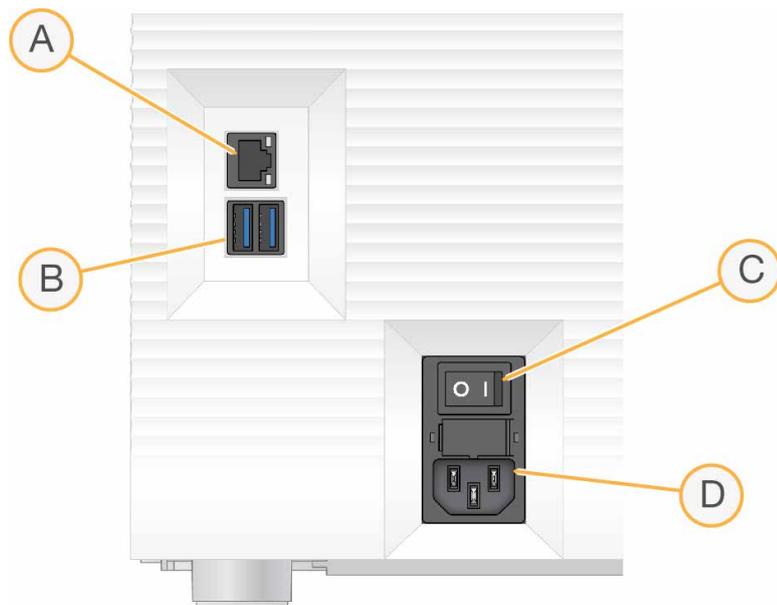
初回の実験用ライブラリーのシーケンスを行う前に、バリデーションランをオプションで実施します。バリデーションランはコントロールライブラリーとして機能する 100% PhiX をシーケンスすることで、システムの動作を確認します。手順については、[20 ページの「シーケンス」](#)を参照してください。

コントロールソフトウェアの最小化

コントロールソフトウェアを最小化し、その他のアプリケーションにアクセスします。例えば、出力フォルダーを閲覧したり、サンプルシートを見つけるため、File Explorer を開きます。

1. タッチ画面を上からスワイプし、Windows タスクバーを開きます。
2. **[iSeq 100 System]** アイコンまたはその他のアプリケーションを選択します。
コントロールソフトウェアが最小化されます。
3. (オプション) キーボードとマウスを装置の USB ポートに取り付けると、コントロールソフトウェア以外での操作と入力が簡単に行えます。

図 7 背面パネルコンポーネント



- A. **イーサネットポート**：オプションのイーサネットケーブル接続用です。
- B. **USB ポート**：補助的なコンポーネントを接続するために 2 ポートあります。
- C. **トグルスイッチ**：装置の電源のオンとオフを行います。
- D. **AC 電源インレット**：電源コードの接続用です。

4. コントロールソフトウェアを最大化するには、上にスワイプし、**[iSeq 100 System]** を選択します。

ランの設定

[System Settings] の [Settings] タブで、ランセットアップ、ランモニタリング、データ解析のためのオプションを設定します。このタブでは、エクスプレスセットアップを使用して、推奨のエクスプレス設定を適用できます。また、手動セットアップオプションを選択して設定をカスタマイズすることもできます。

エクスプレス設定を選択すると、以下の設定が適用され、InterOp ファイル、ログファイル、装置性能データ、ランデータが BaseSpace Sequence Hub に送信されます。

- **Illumina Proactive サポート**：トラブルシューティングを容易にし、潜在的な故障を検出することで、事前のメンテナンスが可能となり、装置の動作可能時間が最大化されます。Software Performance を有効にすると、装置性能データ（シーケンスデータではありません）が BaseSpace Sequence Hub に送信されます。
- **Local Run Manager**：Local Run Manager ソフトウェアを使用すると、シンプルかつ効率的なワークフローでランの作成とランデータの解析を行うことができます。サンプルシートと解析アプリケーションを別々に用意する必要はありません。
- **Remote Run Monitoring**：BaseSpace Sequence Hub を使用して、リモートからランをモニタリングします。
- **Run Analysis, Collaboration, and Storage**：ランデータを保存、解析、共有するには、BaseSpace Sequence Hub を使用します。

i | Local Run Manager は、ランが完了すると解析を自動的に開始します。同時に、BaseSpace Sequence Hub でデータを解析することもできます。

エクスプレス設定の適用

エクスプレスセットアップは、現在のランの設定を、推奨されるランの設定と、BaseSpace Sequence Hub を使用する設定に置き換えます。これらの設定には、インターネット接続と BaseSpace Sequence Hub アカウントが必要です。

1. コントロールソフトウェアメニューから **[System Settings]** を選択します。
2. **[Settings]** タブで **[Use Express Settings]** を選択します。
3. **[Set Region]** リストで、システムが置かれている地理的な場所か、システムが置かれている場所に最も近い場所を選択します。

この設定により、データが BaseSpace Sequence Hub の適切な場所に保存されるようになります。

4. エンタープライズサブスクリプションがある場合、**[Enter Private Domain]** フィールドに、BaseSpace Sequence Hub のシングルサインオンに使用するドメイン名 (URL) を入力します。

例 : `https://yourlab.basespace.illumina.com`

5. **[Next]** を選択します。
6. 設定を確認します。設定を変更するには、以下の手順を実行します。
 - a. **[Edit]** を選択して設定を開きます。
 - b. 必要に応じて設定を変更し、**[Next]** を選択します。
 - c. **[Next]** を選択して以降の画面操作を続行します。

[Settings Review] 画面で、緑色のチェックマークは有効になっている設定を示します。

7. **[Save]** を選択します。
8. システム設定を閉じるには、**[Exit]** を選択します。

手動設定

手動セットアップでは、**[Settings]** タブ上の各画面で、ランの設定を行います。以下の要件があります。

- Illumina Proactive サポートと BaseSpace Sequence Hub を有効にするにはインターネット接続が必要です。BaseSpace Sequence Hub にはアカウントも必要です。
- システムが Manual モードに設定されている場合、データ解析のために BaseSpace Sequence Hub を使用するには、サンプルシートが必要です。詳細については、[16 ページの「サンプルシートの要件」](#)を参照してください。

1. コントロールソフトウェアメニューから **[System Settings]** を選択します。
2. **[Set Up Manually]** を選択します。
3. Software Performance サービスを有効にするかどうかを選択します。
 - 有効にするには、**[Turn on Illumina Proactive Support]** チェックボックスを選択します。
 - 無効にするには、**[Turn on Illumina Proactive Support]** チェックボックスの選択を解除します。

このサービスにより、温度とランタイムなど、装置の性能データがイルミナに送信されます。これらのデータは、イルミナが潜在的な故障を検出しトラブルシューティングを円滑にするのに役立ちます。ランデータは送信されません。詳細については、『Illumina Proactive Technical Note』(文書番号 : 1000000052503) を参照してください。

4. **[Next]** を選択します。
5. ランを BaseSpace Sequence Hub に接続するかどうかを選択します。
 - ランを接続するには、次のチェックボックスのいずれかを選択します。
 - **Turn on run monitoring from anywhere only** : BaseSpace Sequence Hub を使用してリモートモニタリングを行います。
 - **Turn on run analysis, collaboration, and storage also** : BaseSpace Sequence Hub を使用してリモートモニタリングと解析を行います。
 - ランの接続を解除するには、**[Turn on run monitoring from anywhere only]** チェックボックスと **[Turn on run analysis, collaboration, and storage also]** チェックボックスの選択を解除します。

接続すると、コントロールソフトウェアにより InterOp ファイルとログファイルが BaseSpace Sequence Hub に送信されます。**[Run analysis, collaboration, and storage]** オプションではランデータも送信されます。

6. **[Set Region]** リストで、システムが置かれている地理的な場所か、システムが置かれている場所に最も近い場所を選択します。

この設定により、データが BaseSpace Sequence Hub の適切な場所に保存されるようになります。

7. エンタープライズサブスクリプションを利用する場合には、**[Enter Private Domain]** フィールドに、BaseSpace Sequence Hub のシングルサインオンに使用するドメイン名 (URL) を入力します。

例 : <https://yourlab.basespace.illumina.com>

8. **[Next]** を選択します。
9. コントロールソフトウェアを Local Run Manager と統合するかどうかを選択します。
 - Local Run Manager でランの作成とデータ解析を行うには、**[Use Local Run Manager]** を選択します。
 - コントロールソフトウェアでランを作成し、別のアプリケーションでデータを解析するには、**[Use Manual Mode]** を選択します。
 - カスタムプライマーを使用するには、**[Use Manual Mode]** を選択します。

Local Run Manager では、最も効率的なワークフローが提供されますが、コントロールソフトウェアのような機能はありません。これはシーケンスサンプルの記録、ランの作成、データ解析のための統合ソフトウェアです。シーケンスの前に、『Local Run Manager Software Guide』(文書番号 : 1000000002702) をご確認ください。

10. **[Next]** を選択します。
11. 設定を確認します。設定を変更するには、以下の手順を実行します。
 - a. **[Edit]** を選択して設定を開きます。
 - b. 必要に応じて設定を変更し、**[Next]** を選択します。
 - c. **[Next]** を選択して以降の画面操作を続行します。

[Settings Review] 画面で、緑色のチェックマークはその設定が有効になっていることを示します。
12. **[Save]** を選択します。
13. システム設定を閉じるには、**[Exit]** を選択します。

サンプルシートの要件

システムが Manual モードに設定されていて、BaseSpace Sequence Hub でデータを解析する場合、ランごとにサンプルシートが必要です。サンプルシートを作成するには、『iSeq 100 System Sample Sheet Template for Manual Mode』を修正し、ランセットアップの際にこのシートをコントロールソフトウェアにインポートします。インポート後、サンプルシートの名前が自動的に `SampleSheet.csv` に変更されます。

iSeq 100 システムサポートページから、サンプルシートテンプレート『[iSeq 100 System Sample Sheet Template for Manual Mode](#)』をダウンロードします。

! iSeq 100システムに正しい方向でインデックス2 (i5) アダプターシーケンスを入力します。インデックスの方向については、『[Illumina Adapter Sequences](#)』（1000000002694）を参照してください。

サンプルシートは、システムが Local Run Manager モードに設定された際にも必要になります。しかし、Local Run Managerはユーザー用にサンプルシートを作成し、適切な場所に保存します。その他すべての場合、サンプルシートはオプションです。

装置のカスタマイズ

[System Settings] の [Customization] タブで、装置の名前、オーディオ、サムネイルイメージ、ソフトウェアアップデートの設定ができます。

装置の名前

1. コントロールソフトウェアメニューから [**System Settings**] を選択します。
2. [Customization] タブを選択します。
3. [Instrument Nickname] フィールドに、装置の名前を入力します。
入力した名前は各画面の上に表示されます。
4. [**Save**] を選択します。
5. システム設定を閉じるには、[**Exit**] を選択します。

オーディオのオンとオフ

1. コントロールソフトウェアメニューから [**System Settings**] を選択します。
2. [Customization] タブを選択します。
3. システムを消音にするか選択します。
 - オーディオを無効にするには、[**Off**] を選択します。
 - オーディオを有効にするには、[**On**] を選択します。
4. [**Save**] を選択します。
5. システム設定を閉じるには、[**Exit**] を選択します。

サムネイルの保存

1. コントロールソフトウェアメニューから **[System Settings]** を選択します。
2. [Customization] タブを選択します。
3. サムネイルイメージの保存場所を選択します。
 - すべてのサムネイルを保存するには、**[Save all thumbnail images]** チェックボックスを選択します。
 - サムネイルを保存しない場合には、**[Save all thumbnail images]** チェックボックスの選択を解除します。

サムネイルイメージの保存はトラブルシューティング時に役立ちますが、ランの出力データファイルサイズがわずかに増加します。デフォルトでは、すべてのサムネイルイメージが保存されます。

4. **[Save]** を選択します。
5. システム設定を閉じるには、**[Exit]** を選択します。

ソフトウェアアップデートの設定

ソフトウェアアップデートをインストールするため、システムがアップデートを自動的に確認してダウンロードする方法と、手動で確認する方法があります。詳細については、[38 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。

1. コントロールソフトウェアメニューから **[System Settings]** を選択します。
2. [Customization] タブを選択します。
3. システムがソフトウェアアップデートを自動で確認するか選択します。
 - 自動で確認するには、**[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。自動確認にはインターネット接続が必要です。
4. **[Save]** を選択します。
5. システム設定を閉じるには、**[Exit]** を選択します。

ネットワークの設定

システム操作およびデータ転送には、デフォルトネットワーク設定によるインターネット接続のみが必要です。これらの設定は、お客様の組織がカスタムネットワーク要件を必要としない限り、更新する必要はありません。変更する必要がある場合は、デフォルトネットワーク設定の変更のサポートをお客様の IT 担当者にご相談ください。

ネットワーク設定およびコントロールコンピューターのセキュリティについては、『[Network and Computer Security](#)』を参照してください。

出力フォルダーの場所の指定

Universal Copy Service は、ランフォルダーから、BaseSpace Sequence Hub（該当する場合）およびアクセス可能な出力フォルダーにシーケンス出力ファイルをコピーします。

システムが BaseSpace Sequence Hub を使用してランのモニタリング、解析、共有、保存を行うように設定されている場合を除き、出力フォルダーが必要です。出力フォルダーの場所を変更していない場合、Universal Copy Service はファイルを D:\SequencingRuns にコピーします。

1. コントロールソフトウェアメニューから **[System Settings]** を選択します。
2. **[Network Access]** タブを選択します。
3. **[Output Folder]** フィールドで、デフォルトの場所を入力するか **[Browse]** を選択し、その場所に移動します。
 - **内部ドライブ**：D ドライブの既存の場所を入力します。C ドライブは十分な空きがありません。
 - **外部ドライブ**：装置に接続した USB ドライブの場所を入力します。
 - **ネットワークロケーション**：ネットワークロケーションを入力します。デフォルトの場所はランごとに変更できます。
4. 次のとおりに進んでください。
 - 内部ドライブまたは外部ドライブの場所を指定した場合、**[Save]**、**[Exit]** の順に選択し、場所を保存してシステム設定を閉じます。
 - ネットワークロケーションを指定した場合、ステップ 5 ~ 8 を続けて実行し、Universal Copy Service を、指定した場所にアクセスできるアカウントに接続します。
5. Universal Copy Service でアカウントタイプを選択します。
 - **Local System Account**：指定した出力フォルダーが、ローカルアカウントでアクセスできるディレクトリに存在している場合。
 - **Network Account**：指定した出力フォルダーが、ログイン認証情報を必要とするディレクトリに存在する場合。この設定は、デフォルト出力フォルダーの場所とランセットアップ中に指定したすべての場所に適用します。
6. **[Network Account]** を選択した場合、アカウント用のユーザー名とパスワードを入力します。
7. **[Save]** を選択します。
8. システム設定を閉じるには、**[Exit]** を選択します。

インターネットへの接続

Windows Network & Internet 設定で WiFi またはイーサネットのインターネットの接続を設定します。この設定はコントロールソフトウェアから開くことができます。デフォルトのイーサネット接続はデータ転送の信頼性を高めます。

1. コントロールソフトウェアメニューから **[System Settings]** を選択します。
2. **[Network Access]** タブを選択します。
3. **[Network Configuration]** を選択することでコントロールソフトウェアが最小化され、Windows Network & Internet 設定が開きます。
4. インターネット接続を設定します。
 - イーサネット接続を設定する場合、アダプターオプションを **[Ethernet]** に変更します。
 - WiFi を設定する場合、アダプターオプションを **[Wi-Fi]** に変更します。詳細な設定の手順については、Microsoft ウェブサイトの Windows 10 ヘルプを参照してください。
5. 設定が完了したら、Windows 設定を閉じ、コントロールソフトウェアを最大化します。
6. **[Network Access]** タブから、**[Save]** を選択します。
7. システム設定を閉じるには、**[Exit]** を選択します。

プロキシサーバーへの接続

1. コントロールソフトウェアを最小化します。
2. Windows Start から、[Run] ダイアログボックスを開きます。
3. 「cmd」と入力し、[OK] を選択します。
4. 以下のコマンドを入力します。

```
C:\windows\System32\bitsadmin.exe /Util /SetIEProxy LocalSystem Manual_proxy  
http://<プロキシサーバー>:<プロキシポート> NULL
```

5. http://<プロキシサーバー>:<プロキシポート> をお使いのプロキシサーバーアドレスとプロキシポートに置き換え、NULL をバイパスに置き換えます。
6. [Enter] を押してコマンドを実行します。
7. 装置を再起動します。手順については、[46 ページの「装置の再起動」](#)を参照してください。

シーケンス

クラスター形成、シーケンス、および解析の各ステップから iSeq 100 上でのシーケンスが構成されています。それぞれのステップはシーケンスランの間に自動的に実行されます。システム設定に応じて、ランの完了後に、装置外で追加の解析を実施します。

- クラスター形成**：ライブラリーは自動的に一本鎖に変性され、さらに装置上で希釈されます。クラスター形成中、単一 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を形成します。
- シーケンス**：クラスターは 1 色法ケミストリーを使ってイメージ化されます。1 色法ケミストリーは 1 つの蛍光標識と 2 つのイメージ取得サイクルを使って 4 つのヌクレオチドの情報をエンコードします。最初のイメージ取得サイクルはアデニン (A) とチミン (T) を検出します。その後ケミストリーサイクルによって A から蛍光色素が解離され、同時に同様の色素がシトシン (C) に付加されます。2 回目のイメージ取得サイクルでは C と T を検出します。2 回目のイメージ取得サイクル後、Real-Time Analysis ソフトウェアはベースコーリング、フィルタリング、およびクオリティスコアリングを行います。このプロセスはシーケンスの各サイクルで繰り返し行われます。1 色法ケミストリーについて詳しくは、[44 ページの「ベースコーリング」](#)を参照してください。
- 解析**：ランの実行中に、データ解析のために、コントロールソフトウェアがベースコールファイル (*.bcl) を自動的に指定の出力フォルダーに転送します。データ解析方法は、アプリケーションおよびシステム設定によって異なります。

ローディング量と濃度

カートリッジに対するライブラリーのローディング量は 20 μL です。ローディング濃度はライブラリーのタイプとカートリッジ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)	1 nM ライブラリー量 (μL)	RSB 量 (μL)
100% PhiX (PhiX のみのランの場合)	100	10	90
AmpliSeq Library PLUS for Illumina	50	5	95
Illumina DNA Prep	100	10	90
Illumina DNA Prep with Enrichment	75	7.5	92.5
Nextera XT DNA	150	15	85
TruSeq DNA Nano	150	15	85
TruSeq DNA PCR-Free	100	10	90
Illumina DNA PCR-Free Prep	120	12	88

その他のライブラリータイプでは、最初のローディング濃度として 50 pM を推奨します。その後のランを行ってこの濃度を最適化し、一貫して仕様を満たすデータを出力するローディング濃度の決定を行います。

ローディング濃度が高すぎたり低すぎたりすると、クラスター形成とランのメトリクスが最適でなくなります。詳細については、『[Cluster Optimization Overview Guide](#)』（文書番号：1000000071511）を参照してください。

推奨されるサイクル数

各リードに対して、最小 26 サイクルから最大 151 サイクルを入力することでデータ品質が最適化されます。正確なサイクル数は実験に応じて異なります。

最小および最大サイクル数は余分の 1 サイクルを含みます。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。リード長は Read 1 および Read 2 のシーケンスサイクル数であり、余分のサイクルとインデックスサイクルは除外されます。

ランセットアップの例

- 36 のリード長（シングルリード）に対しては、Read 1 のフィールドに **37** と入力します。
- 1 リードあたり 150 のリード長（ペアエンド）に対しては、Read 1 のフィールドに **151**、Read 2 のフィールドに **151** と入力します。

シーケンスの要件

- 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手袋を装着してください。クロスコンタミネーションを防ぐため、指示があった場合は手袋を交換してください。
- プロトコ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。[[Consumables and Equipment](#)] を参照してください。
- 指定の量、温度、および所要時間を用いて、表示されている順序でプロトコルを実施してください。
- ストップポイントが指定されていない場合、ただちに次の手順に進んでください。
- **カートリッジをウォーターバスで融解する場合は、融解前に最低 1 日はカートリッジを -25°C ~ -15°C で保管してください。**ウォーターバスは、3 つある融解方法のうちで最も高速な方法です。

袋入りカートリッジの融解

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. カートリッジが箱に入っている場合、箱からカートリッジを取り出しますが、**白いホイルバッグを開けないでください。**



4. 以下の方法のうちの1つを選択して、袋入りカートリッジを融解します。融解後は、再凍結または他の保存を行わず、速やかに使用してください。

方法	融解時間	手順
20°C～25°C、 ウォーターバス	6時間、最大18時間	<ul style="list-style-type: none"> カートリッジあたり6 L (1.5 gal)の水を使用します。 温調ウォーターバスを25°Cに設定する、または温水と冷水を混合し、20°C～25°Cを達成します。 バッグのラベルを上に向け、カートリッジを完全に沈めて、約2 kg (4.5 lb)のおもりを乗せて浮き上がらないようにします。 温調されていない場合、ウォーターバスにカートリッジを積まないでください。
2°C～8°C、冷蔵	36時間、最大1週間	ラベルを上に向け、底面を含むすべての側面で空気が流れるよう、カートリッジを配置します。
室温	9時間、最大18時間	ラベルを上に向け、底面を含むすべての側面で空気が流れるよう、カートリッジを配置します。

! カートリッジがドライアイスで保存されていて、配送されてから直接ウォーターバスで融解する場合、性能に悪影響を及ぼす場合があります。融解前に、-25°C～-15°Cで1日以上保管してください。

5. ウォーターバスからカートリッジを取り出したときに、その表面が濡れている場合は、ペーパータオルで拭いて乾かします。

フローセルとライブラリーの準備

フローセルとライブラリーをカートリッジにローディングする前に、フローセルを室温に戻し、ライブラリーを希釈し、必要に応じてPhiXを添加します。ライブラリーは装置内で自動的に変性されます。

以下の希釈方法が、装置でサポートされている二本鎖イルミナライブラリーに適用されます。常にライブラリーのQCを行い、使用するライブラリーのローディング濃度を最適化し、二本鎖ライブラリーを生成するノーマライゼーション法を採用してください。一本鎖ライブラリーを生成するBead-based normalization法は装置上での変性に対応していません。

ライブラリーを1 nMに希釈

- フローセルを次のように準備します。
 - 2°C～8°Cの保管庫から新しいフローセルを取り出します。
 - 未開封のパッケージを室温で10～15分間放置します。
- 25°C～-15°Cの保管庫からResuspension Buffer (RSB)を取り出します。別の方法としては、RSBの代わりに、10 mM Tris-HCl, pH8.5を使用します。
- (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のみです。
- RSBとオプションのPhiXを室温で10分間融解します。

5. **低吸着**マイクロ遠心チューブで、RSB を用いてライブラリーを希釈し、以下の量の 1 nM ライブラリーを調製します。

ライブラリータイプ	1 nM ライブラリー量 (μL) *
100% PhiX (PhiX のみのランの場合)	12
AmpliSeq Library PLUS for Illumina	7
Illumina DNA Prep	12
Illumina DNA Prep with Enrichment	10
Nextera XT DNA	20
TruSeq DNA Nano	20
TruSeq DNA PCR-Free	12
Illumina DNA PCR-Free Prep	15

* これらの分量には、正確なピペティングのための余分が含まれています。

シーケンスを正常に行うため、ライブラリーを低吸着マイクロ遠心チューブで希釈する必要があります。

6. 軽くボルテックスして、280 × g で 1 分間遠心します。
7. (オプション) 1 nM のライブラリーは -25°C ~ -15°C で最長 1 か月保管できます。

1 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で、次の量を混ぜ合わせて該当するローディング濃度に希釈した 100 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)	1 nM ライブラリー量 (μL)	RSB 量 (μL)
100% PhiX (PhiX のみのランの場合)	100	10	90
AmpliSeq Library PLUS for Illumina	50	5	95
Illumina DNA Prep	100	10	90
Illumina DNA Prep with Enrichment	75	7.5	92.5
Nextera XT DNA	150	15	85
TruSeq DNA Nano	150	15	85
TruSeq DNA PCR-Free	100	10	90
Illumina DNA PCR-Free Prep	120	12	88

これらの表はローディング濃度の例を示しています。iSeq 100 は SureCell WTA 3' 以外のイルミナの全ライブラリー調製キットと互換性がありますが、最適なローディング濃度は変わる場合があります。

- 軽くボルテックスして、280 × g で 1 分間遠心します。
- 希釈したライブラリーはシーケンス開始まで氷上に置いてください。希釈した当日のうちにシーケンスを開始してください。
- PhiX を添加しないまたは PhiX のみのランを行う場合、次のセクションを飛ばし、[25 ページの「消耗品のカートリッジへのロード」](#)に進んでください。

PhiX コントロールの添加（オプション）

PhiX は、塩基存在比のバランスが取れた、ゲノムサイズの小さな調製済みのイルミナのライブラリーです。2% の PhiX をライブラリーに添加することで、追加のメトリクスが得られます。多様性の低いライブラリーについては、塩基の多様性を増加させるために 10% の添加を用いることが推奨されます。

i | 追加のメトリクスを得るには、1% 以下の添加でも有効ですが、ピペット操作が困難になります。

- 低吸着マイクロ遠心チューブに次の量を加えて 50 μ L の 1 nM PhiX を調製します。
 - 10 nM PhiX (5 μ L)
 - RSB (45 μ L)
- 軽くボルテックスして、280 × g で 1 分間遠心します。
- (オプション) 1 nM の PhiX は -25°C ~ -15°C で最長 1 か月保管できます。
- 低吸着マイクロ遠心チューブで、1 nM の PhiX と RSB を加えて、ライブラリーと同じローディング濃度に希釈した 100 μ L の PhiX を調製します。

例：

PhiX ローディング濃度 (pM)	1 nM PhiX 量 (μ L)	RSB 量 (μ L)
25	2.5	97.5
50	5	95
70	7	93
80	8	92
100	10	90
115	11.5	88.5
200	20	80

- PhiX とライブラリーの混合：
 - 2% 添加を行うには、2 μ L の希釈した PhiX を 100 μ L の希釈したライブラリーに添加します。
 - 10% 添加を行うには、10 μ L の希釈した PhiX を 100 μ L の希釈したライブラリーに添加します。
 実際の PhiX の割合はライブラリーのクオリティと量により異なります。
- 軽くボルテックスして、280 × g で 1 分間遠心します。
- 氷上に PhiX を添加したライブラリーを置いておきます。

消耗品のカートリッジへのロード

1. (オプション) カートリッジの準備とローディングに関する説明ビデオを参照するには、[Sequence] を選択します。
2. 切れ込みからカートリッジバッグを破って開きます。
3. カートリッジ上部の窓を触らないようにし、カートリッジを袋から取り出します。袋は処分します。
4. カートリッジを 5 回転倒混和し、試薬を混合します。
内部コンポーネントが転倒中に音を立てますが、これは正常です。
5. ベンチ、または別の堅い表面上でカートリッジ（ラベルは上向き）を軽く 5 回叩き、試薬の吸引が確実に行われるようにします。
6. カスタムプライマーを使用しない場合は、[25 ページの「ライブラリーのロード」](#)に進んでください。カスタムプライマーを使用する場合は、[34 ページの「試薬カートリッジへのカスタムプライマーの追加」](#)に進んでください。

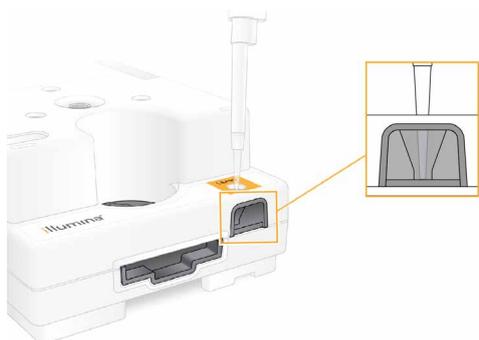
ライブラリーのロード

1. 新しいピペットチップを使って、ライブラリーリザーバーに穴をあけ、ホイルを端に押し、穴を大きくします。



2. コンタミネーションを防ぐために、使用したピペットチップを廃棄します。
3. 20 μ L の希釈済みライブラリーをリザーバーの**底部**に加えます。ホイルには触れないでください。

カスタムプライマーを使用する場合、希釈済みライブラリーの前にカスタムプライマーを追加します。詳細については、[33 ページの「カスタムプライマーの調製とラン」](#)を参照してください。



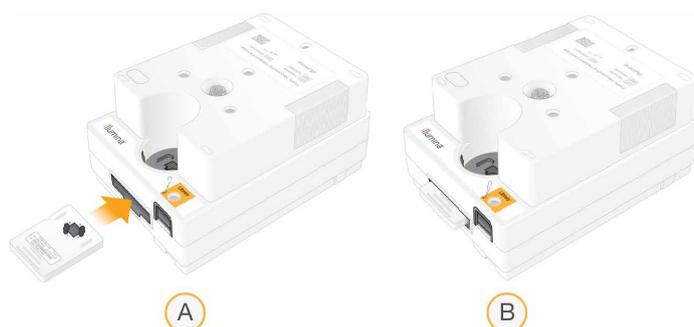
フローセルのロード

1. 切れ込みから白いホイルフローセルパッケージを破って開きます。開封後24時間以内に使用してください。
2. フローセルをパッケージから取り出します。
 - フローセルを扱うときはプラスチック部分だけを触ります。
 - 電氣的インターフェース、CMOS センサー、ガラスおよびガラス両端のガスケットを触らないようにします。



3. ラベルが上を向いた状態でフローセルのグリップポイントを持ちます。
4. カートリッジの前面のスロットにフローセルを挿入します。

カチッという音によりフローセルが固定されたことが分かります。適切にロードされると、グリップがカートリッジから突き出し、ガラスがアクセスウィンドウから見えるようになります。



- A. フローセルをロード
- B. ロードされたフローセル

5. パッケージを次のように処分します。
 - a. クラムシェルケースをホイルパッケージから取り出します。
 - b. 乾燥材をクラムシェルから取り出します。
 - c. クラムシェルケースをリサイクルし、ホイルパッケージと乾燥材を処分します。
6. システムが Local Run Manager と統合されているかどうかに応じて続行します。
 - Local Run Manager を使用する場合は、[27 ページの「シーケンスランの設定 \(Local Run Manager\)」](#)に従ってください。
 - Local Run Manager を使用しない場合は、[30 ページの「シーケンスランの設定 \(Manual モード\)」](#)に従ってください。

シーケンスランの設定（Local Run Manager）

Local Run Manager を使用してランをセットアップする場合は、Local Run Manager でランの作成と保存を行い、コントロールソフトウェアに戻って消耗品をロードし、ランを選択します。データは指定した出力フォルダーに保存され、ランが完了したときに Local Run Manager が自動的に解析を行います。

1. Local Run Manager を装置モニターでローカルで開くか、その他のコンピューターからリモートで開きます。

アクセス	Local Run Manager の開き方
ローカル	コントロールソフトウェアメニューから、 [Local Run Manager] 選択し、 [Open Local Run Manager] を選択します。
リモート	コントロールソフトウェアメニューから [About] を選択し、システム IP アドレスを取得します。 装置と同じネットワーク上にあるコンピューターから、Chromium で Local Run Manager を開きます。接続するにはシステム IP アドレスを使用します。

2. Chromium が装置モニター上でブランク表示される場合、装置を再起動し、ランセットアップを再開します。手順については、[46 ページの「装置の再起動」](#)を参照してください。
3. Local Run Manager でランを作成し、保存します。
 - 手順については、『Local Run Manager Software Guide』（1000000002702）を参照してください。
 - PhiX のみのランの場合、インデックスは使用しません。
 Local Run Manager は自動的に保存したランをコントロールソフトウェアに送信します。
4. コントロールソフトウェアで **[Sequence]** を選択します。
ソフトウェアは特定の角度でドアを開き、トレイを出し、一連のランセットアップ画面を開始します。
5. (オプション) **[Help]** を選択しスクリーン上の指示を確認します。
ヘルプの指示が各スクリーンに表示され、補足ガイダンスが表示されます。

カートリッジを装置にロード

1. カートリッジが融解されており、フローセルと希釈済みライブラリーがロードされていることを確認します。
2. アクセスウィンドウが上（奥）になるようにカートリッジをトレイに載せると、フローセルが装置の奥側にセットされます。カートリッジまたはトレイを装置の中に押し込まないでください。



3. **[Close Door]** を選択すると、カートリッジを格納し、ドアが閉まります。
画面の左側にパネルが表示され、スキャンした消耗品からの情報を表示します。

BaseSpace Sequence Hub へのサインイン

[BaseSpace Sequence Hub] 画面は、システムが [Run Monitoring] または [Run Monitoring and Storage] に設定されている場合に表示されます。

1. BaseSpace Sequence Hub から現在のランの接続を切断するには、[**Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In**] を選択します。
ただし、装置性能データはこの状態でもイルミナに送信されます。
2. 現在のランに対する接続を変更するには、設定オプションを選択します。
 - **Run Monitoring Only** : InterOp ファイルのみを BaseSpace Sequence Hub に送信し、リモートモニタリングを可能にします。
 - **Run Monitoring and Storage** : ランデータを BaseSpace Sequence Hub に送信し、リモートモニタリングおよび解析を可能にします。
3. BaseSpace Sequence Hub のユーザー名およびパスワードを入力した後、[**Sign In**] を選択します。
4. [Available Workgroups] リストが表示された場合は、ワークグループを選択し、ランデータをアップロードします。
このリストは複数のワークグループに入っている場合に表示されます。
5. [**Run Setup**] を選択します。

ランの選択

1. Local Run Manager のログイン画面が表示された場合は、以下の操作を行います。
 - a. ユーザー名とパスワードを入力します。
 - b. [**Log In**] を選択します。
この画面は Local Run Manager にサインインが必要と設定されている場合に表示されます。デフォルトではサインインは不要です。
2. Local Run Manager で保存したランを一覧表示している [Run Name] リストからランを選択します。
 - 更新リストを確認するためには、[**Refresh**] を選択します。
 - 空のリストに入力するには、[**Open Local Run Manager**] を選択し、ランを作成します。
[Open Local Run Manager] を選択して、コントロールソフトウェアを最小化し、Chromium の Local Run Manager を開きます。
3. コントロールソフトウェアをランの作成のために開いたままにしていた場合、戻ってランを選択します。
[**Refresh**] を選択してリストを更新します。
4. (オプション) [**Edit**] を選択し、ランパラメーターを変更します。
 - a. リードタイプを変更するには、[Single Read] または [Paired End] を選択します。
 - b. リードサイクルを変更するには、Read 1 のサイクルについて **26 ~ 151** のサイクルを入力します。
実施したいサイクル数に 1 サイクル加えます。
 - c. 現在のランに対する出力フォルダーを変更するには、その場所へのパスを入力するか、[**Browse**] を選択し、その場所へ移動します。
 - d. [**Save**] を選択することで、コントロールソフトウェアおよび Local Run Manager の両方でランのアップデートが行われます。
5. [**Start Run**] を選択し、プレランチェックを開始します。

プレランチェックの確認

プレランチェックには装置チェックおよびフローチェックが含まれます。フローチェックはカートリッジシールに穴をあけ、フローセルに試薬を流すため、消耗品はフローチェックを開始後、再使用できません。

1. プレランチェックが完了するまで約 15 分間待機します。

正常に完了すると、ランが自動的に開始します。システムを消音にしない限り、チャイム音がランの開始を知らせます。

! | プレランチェック中またはラン中にドアを開けるとランの失敗の原因となります。

2. 装置チェックの間にエラーが発生した場合は、[**Retry**] を選択し、チェックをやり直します。

装置チェックはフローチェックより前に行います。チェックが進行中のとき、そのチェックを示すバーが表示されます。

3. エラーが再び発生した場合は、50 ページの「[エラーメッセージの解消](#)」を参照してトラブルシューティングを行います。

ランの進捗状況のモニタリング

1. サイクル 26 の後に [Sequencing] 画面に表示されるランの進捗状況およびメトリクスをモニターします。

メトリクス	内容説明
%Q30 Read 1	Q スコア 30 以上の Read 1 ベースコールの割合
%Clusters PF	クオリティフィルターをパスしたクラスターの割合
%Occupancy	クラスターが形成されたフローセルウェルの割合
Projected Total Yield	そのランに対して予測されるベースコール数

2. ファイルのコピーやその他のラン進行状況をモニターするには、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。

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。

ソフトウェアが装置から使用済みカートリッジを出します。

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. 使用している地域の適切な基準に従って、電気的コンポーネントを含むフローセルを廃棄してください。

5. 使用している地域の適切な基準に従って、廃液を含むカートリッジを廃棄してください。

フルディスクはカートリッジとともに廃棄するため、ポストランウォッシュは必要ありません。

! | 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。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、および安全の情報については、jp.support.illumina.com/sds.html に掲載の SDS を参照してください。

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

ソフトウェアは自動的にトレイを再ロードし、センサーがカートリッジの取り出しを確認します。

シーケンスランの設定（Manual モード）

Manual モードでランをセットアップする場合、コントロールソフトウェアでランパラメーターを指定し、任意のアプリケーションを使用して装置外で解析を行うこととなります。ソフトウェアは解析用のデータを出カフォルダーに保存します。FASTQ ファイルの生成には追加のステップが必要となります。カスタムプライマーを使用する場合、ランセットアップ手順については、[33 ページの「カスタムプライマーの調製とラン」](#)を参照してください。

1. システムが BaseSpace Sequence Hub を使用してランの解析、共有、保存を行うように設定されている場合は、ランのサンプルシートを作成します。
 - a. [iSeq 100ソフトウェアダウンロードページ](#)から『iSeq 100 System Sample Sheet Template for Manual Mode』をダウンロードします。詳細については、[イルミナサポートセンターのiSeq 100システムサポートページ](#)を参照してください。
 - b. 必要に応じてテンプレートを変更します。次のことを確認してください。
 - インデックス2 (i5) アダプターシーケンスの向きが正しいこと。方向については、[『Illumina Adapter Sequences』 \(1000000002694\)](#) を参照してください。
 - サンプルシートの値がコントロールソフトウェアの値と一致していること。例えば、サンプルシートと [Run Setup] 画面の両方のリード1フィールドに151を入力しているかどうかを確認します。
 - c. テンプレートを CSV ファイル形式で保存します。
2. コントロールソフトウェアで **[Sequence]** を選択します。
ソフトウェアは特定の角度でドアを開き、トレイを出し、一連のランセットアップ画面を開始します。
3. (オプション) **[Help]** を選択しスクリーン上の指示を確認します。
ヘルプの指示が各スクリーンに表示され、補足ガイダンスが表示されます。

カートリッジを装置にロード

1. カートリッジが融解されており、フローセルと希釈済みライブラリーがロードされていることを確認します。
2. アクセスウィンドウが上（奥）になるようにカートリッジをトレイに載せると、フローセルが装置の奥側にセットされます。カートリッジまたはトレイを装置の中に押し込まないでください。



3. **[Close Door]** を選択すると、カートリッジを格納し、ドアが閉まります。
画面の左側にパネルが表示され、スキャンした消耗品からの情報を表示します。

BaseSpace Sequence Hub へのサインイン

[BaseSpace Sequence Hub] 画面は、システムが [Run Monitoring] または [Run Monitoring and Storage] に設定されている場合に表示されます。

1. BaseSpace Sequence Hub から現在のランの接続を切断するには、[**Skip BaseSpace Sequence Hub Sign In**] を選択します。

装置性能データはこの状態でもイルミナに送信されます。

2. 現在のランに対する接続を変更するには、設定オプションを選択します。

- **Run Monitoring Only** : InterOp ファイルのみを BaseSpace Sequence Hub に送信し、リモートモニタリングを可能にします。
- **Run Monitoring and Storage** : ランデータを BaseSpace Sequence Hub に送信し、リモートモニタリングおよび解析を可能にします。

3. BaseSpace Sequence Hub のユーザー名およびパスワードを入力した後、[**Sign In**] を選択します。

4. [Available Workgroups] リストが表示された場合は、ワークグループを選択し、ランデータをアップロードします。

このリストは複数のワークグループに入っている場合に表示されます。

5. [**Run Setup**] を選択します。

ランパラメーターの入力

1. [Run Name] フィールドに、実行中の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、ハイフン、およびアンダースコアを使用できます。

2. [Read Type] で、次のオプションのいずれかを選択します。

- **Single Read** : シーケンスリードを実行します。簡単で迅速な選択肢です。
- **Paired End** : 2 回のシーケンスリードを実行します。高品質なデータを生成し、より精度の高いアライメントが得られます。

3. [Read Cycle] に、各リードで実行するサイクル数を入力します。

- Read 1 と Read 2 では、実施したいサイクル数に 1 サイクル加えます。
- PhiX のみのランの場合には、両方のインデックスランに **0** を入力します。

リード	サイクル数
Read 1	26 ~ 151
Index 1	最大 10
Index 2	最大 10
Read 2	26 ~ 151

Read 2 は、通常、追加のサイクルを含め、Read 1 と同じ値です。Index 1 は i7 インデックスアダプターをシーケンスし、Index 2 は i5 インデックスアダプターをシーケンスします。

4. 現在のランの出力フォルダーを指定するまたはサンプルシートをアップロードするには、**[Advanced]** を選択します。
 - **[Output Folder]** フィールドで、出力フォルダーの場所へのパスを入力するか **[Browse]** を選択し、その場所へ移動します。
 - **[Sample Sheet]** フィールドで、サンプルシートの場所へのパスを入力するか **[Browse]** を選択し、ファイルを選択します。
5. **[Start Run]** を選択し、プレランチェックを開始します。

プレランチェックの確認

プレランチェックには装置チェックおよびフローチェックが含まれます。フローチェックはカートリッジシールに穴をあけ、フローセルに試薬を流すため、消耗品はフローチェックを開始後、再使用できません。

1. プレランチェックが完了するまで約 15 分間待機します。

正常に完了すると、ランが自動的に開始します。システムを消音にしない限り、チャイム音がランの開始を知らせます。

! | プレランチェック中またはラン中にドアを開けるとランの失敗の原因となります。
2. 装置チェックの間にエラーが発生した場合は、**[Retry]** を選択し、チェックをやり直します。

装置チェックはフローチェックより前に行います。チェックが進行中のとき、そのチェックを示すバーが表示されます。
3. エラーが再び発生した場合は、[50 ページの「エラーメッセージの解消」](#)を参照してトラブルシューティングを行います。

ランの進捗状況のモニタリング

1. サイクル 26 の後に **[Sequencing]** 画面に表示されるランの進捗状況およびメトリクスをモニターします。

メトリクス	内容説明
%Q30 Read 1	Q スコア 30 以上の Read 1 ベースコールの割合
%Clusters PF	クオリティフィルターをパスしたクラスターの割合
%Occupancy	クラスターが形成されたフローセルウェルの割合
Projected Total Yield	そのランに対して予測されるベースコール数

2. ファイルのコピーやその他のラン進行状況をモニターするには、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。

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。

ソフトウェアが装置から使用済みカートリッジを出します。
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. 使用している地域の適切な基準に従って、電気的コンポーネントを含むフローセルを廃棄してください。

5. 使用している地域の適切な基準に従って、廃液を含むカートリッジを廃棄してください。

フルイデックスはカートリッジとともに廃棄するため、ポストラッシュは必要ありません。

! 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。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、および安全の情報については、jp.support.illumina.com/sds.html に掲載の SDS を参照してください。

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

これにより、ソフトウェアは自動的にトレイを再ロードし、センサーがカートリッジの取り出しを確認します。

カスタムプライマーの調製とラン

カスタムプライマーは HT1 で希釈した後 iSeq 100 試薬カートリッジのライブラリーリザーバーに添加します。先に進む前に、試薬カートリッジが融解および点検されていることを確認してください。

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製ライブラリーを使用する場合は、各イルミナシーケンスプライマーに添加して、カスタムリードプライマーを調製します。

カスタムリードプライマーおよびカスタムインデックスプライマーを次のように調製します。

- HT1 を使用して各カスタムリードプライマー混合液を希釈し、最終濃度 0.3 μM 、液量 140 μL となるように調製します。
- 各カスタムインデックスプライマー混合液を HT1 を使用して希釈し、最終濃度 0.6 μM 、液量 140 μL となるように調製します。

VP10 および VP14 カスタムプライマー

お使いのライブラリー調製キットに VP10 カスタム Read 1 プライマーまたは VP14 カスタム Index 2 プライマーが必要である場合、[34 ページの「試薬カートリッジへのカスタムプライマーの追加」](#)に進んでください。VP10 および VP14 カスタムプライマーは、調製する必要がありません。お使いのライブラリー調製キットに VP10 または VP14 カスタムプライマーが必要であるかどうか確認するには、[イルミナサポートサイト](#)でお使いのライブラリーキットの Compatible Products ページを参照してください。

! ライブラリーをロードする前に、カートリッジとフローセルを挿入し、画面上の指示に従ってカスタムプライマーをサンプルウェルにロードします。プレランチェック前のカスタムプライマーランの開始時にライブラリーをカートリッジにロードすると、カートリッジが使用できなくなります。

カスタムプライマー用のランの設定

- iSeq 100 が Manual ランモードになっており、システム設定でカスタムプライマーワークフローが有効になっていることを確認してください。詳細については、『iSeq 100 Sequencing System Custom Primers』(200008671) を参照してください。
- iSeq 100 Control Software の [Run Setup] ページで、[Sequence] を選択します。
- [Yes] を選択して、ランでカスタムプライマーを使用することを確認します。
- カートリッジおよびフローセルをロードした後で、[Close door] を選択します。この時点でライブラリーを追加しないでください。詳細については、[26 ページの「フローセルのロード」](#)を参照してください。
- [Run Setup] ページで、各リードおよびインデックスに次のいずれかのオプションを選択します。
 - No** : 試薬カートリッジに既存のイルミナプライマーを使用します。デフォルトでは [No] が選択されています。
 - Yes** : カスタムプライマーを使用します。

6. **[Start Pre-Run Checks]** を選択します。

i | プレランチェックが開始されると、ランパラメーターが変更できなくなり、消耗品が再使用できなくなります。

7. プレランチェックが完了するまで約 15 分間待機します。

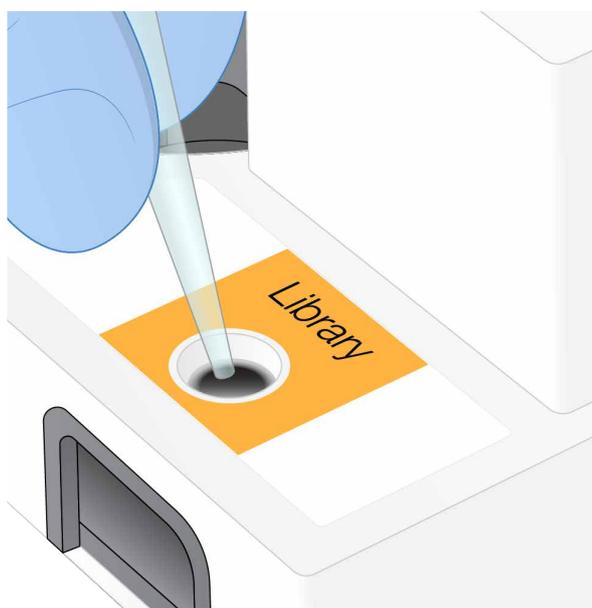
試薬カートリッジへのカスタムプライマーの追加

ロードされたカスタムプライマーの数によっては、シーケンスワークフローに最大35分かかることがあります。

カスタムプライマーをロードすると、ランを取り消しても、消耗品を再使用することはできません。

プレランチェックが終了すると、システムによって自動的にカートリッジが取り出されます。システムを消音していない場合は、カスタムプライマーをロードするように指示する警報が鳴ります。

1. 新しいピペットチップを使って、ライブラリーリザーバーに穴をあけ、ホイールを端に押し、穴を大きくします。



2. コンタミネーションを防ぐために、使用したピペットチップを廃棄します。

3. 140 μ L のカスタムプライマーを試薬カートリッジのリザーバーの底部に加えます。ホイールには触れないでください。

4. カートリッジをロードし、**[Close Door]** を選択してから、**[Yes, Close Door]** を選択します。

カスタムプライマーのロードに、カスタムプライマーあたり約 8 分かかることがあります。

5. **[Run Setup]** ページで複数のカスタムプライマーを選択した場合、ステップ 4 ~ 5 を繰り返します。

6. 20 μ L の希釈済みライブラリーを試薬カートリッジのリザーバーの底部に加えます。ホイールには触れないでください。

7. カートリッジをロードし、**[Close Door & Start Run]** を選択してから、**[Yes, Close Door]** を選択し、シーケンスを開始します。カスタムプライマーを調製してから 1 時間以内にシーケンスを開始してください。システム内にカートリッジを保管すると、カスタムプライマー混合液が蒸発することがあります。

メンテナンス

以下のセクションでは、Illumina iSeq 100 システムのメンテナンス手順について説明します。

ハードドライブスペースのクリア

シーケンスランはローカルハードドライブに約 200 GB のスペースが必要です。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。次のステップに従って、完了したランを削除し、スペースを空けてください。

! 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、iSeq 100 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たランのリストが表示されます。
2. 削除対象のランについて、**[Delete Run]** を選択します。
ランを削除することによりローカル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. 削除したい各ランについて、ステップ 2 および 3 を繰り返します。
5. 終了したら、[Disk Management] を閉じて [Home] 画面に戻ります。

エアフィルターの交換

エアフィルターは 1 回使用の発泡体で、装置背面の 2 つのファンをカバーします。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保証に含まれており、またイリミナから購入することができます。

初回セットアップを開始したときから、ソフトウェアは 6 カ月ごとにエアフィルター交換の指示を表示します。次の手順に従って使用期限が切れたエアフィルターを交換します。

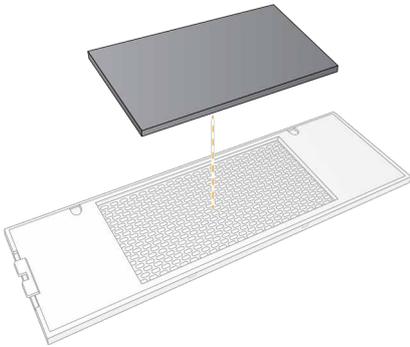
1. 装置を適切な場所に置き、簡単に背面にアクセスできるようにします。
2. 装置の背面で、次の説明に示すように上のパネルの右側を押すと離れます。



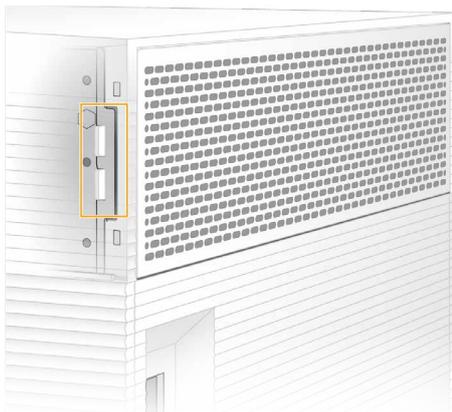
3. パネルを装置から取り外します。



4. エアフィルターをパネルの中央から取り外し、処分します。



5. 新しいエアフィルターをパネルに配置し、押さえて固定します。
6. 2つのパネルロックを装置の穴に挿入し、パネルを所定場所に押し付けて取り付けます。



7. 装置を元の場所に戻します。
8. [Filter Changed] を選択し、先へ進みます。

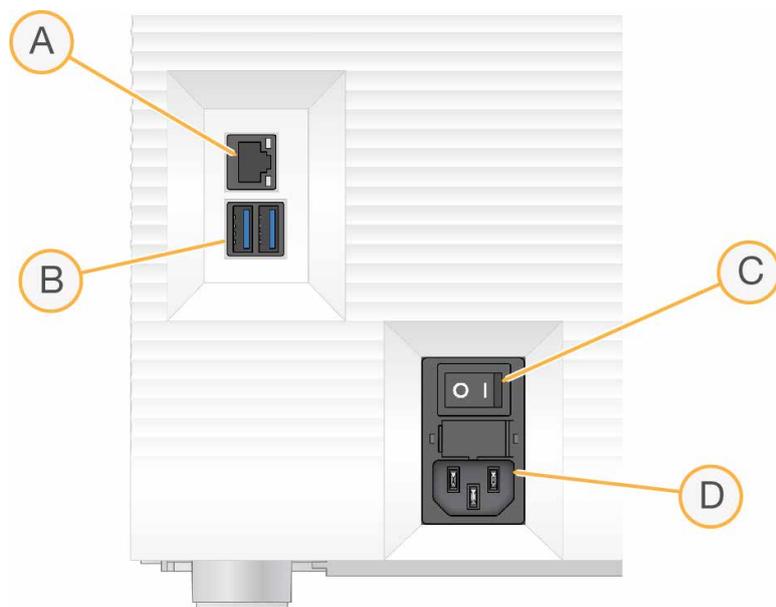
装置の再設置

装置を安全に再設置するために次の手順を使用します。新しい設置場所は、『iSeq 100 Sequencing System Site Prep Guide』（1000000035337）に記載されている要件を満たすことを確認してください。

装置を返品中の場合、本セクションを飛ばし [52 ページの「事前交換」](#) を参照してください。

1. コントロールソフトウェアメニューから [**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、装置左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、背面パネルのトグルスイッチの電源をオフ（○）側に押します。
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 背面パネルコンポーネント



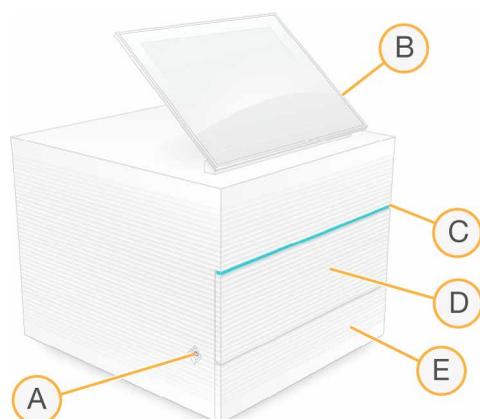
- A. **イーサネットポート**：オプションのイーサネットケーブル接続用です。
- B. **USB ポート**：補助的なコンポーネントを接続するために 2 ポートあります。
- C. **トグルスイッチ**：装置の電源のオンとオフを行います。
- D. **AC 電源インレット**：電源コードの接続用です。

4. コンセントから電源コードを抜き、背面パネルの AC 電源アウトレットから電源コードを抜きます。
5. 該当する場合には、イーサネットケーブルを壁のアウトレットから抜き、背面パネルのイーサネットポートからケーブルを抜きます。
6. 装置を必要な場所に再設置します。
装置の重量は 15.9 kg (35 lb) あるため、2 人で持ち上げてください。
7. モニターを上げます。
8. 装置をネットワークに接続する場合は、イーサネットケーブルをイーサネットポートに接続します。
9. 背面パネルの AC 電源インレットに電源コードを接続して、コンセントに接続します。
10. トグルスイッチの電源をオン（I）側に押します。
11. 電源ボタンが点滅したら押してください。

12. 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、システムを初期化します。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 [Home] 画面が表示されます。

図 9 外部システムコンポーネント



- A. **電源ボタン**：装置の電源をコントロールし、システムがオン（点灯）、オフ（消灯）、または AC 電源が入ったままのオフ（点滅）を示します。
- B. **タッチスクリーンモニター**：iSeq 100 Control Software インターフェースによりシステムの設定およびセットアップができるようにします。
- C. **ステータスバー**：システムステータスを示し、シーケンスの準備ができる状態は緑、処理中は青、注意が必要な場合はオレンジになります。
- D. **消耗品コンパートメント**：ラン中の試薬を格納します。
- E. **ドリフトレイドア**：漏れた液体を受け止めるドリフトレイにアクセスします。

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、お使いのシステムに最新機能と修正が反映されます。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。

- iSeq 100 Control Software
- iSeq 100 レシピ
- Universal Copy Service
- Real-Time Analysis
- Local Run Manager（フレームワークのみ）

i | Local Run Manager はシステムスイートに含まれますが、解析モジュールは含まれません。必要に応じて、sbsadmin アカウントを使用して別途インストールしてください。解析モジュールインストーラーは Local Run Manager サポートページからアクセスできます。

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します。

- **Automatic updates**：自動的に BaseSpace Sequence Hub からアップデートをダウンロード後、インストールされます。このオプション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。

- **Manual updates** : 手でウェブからアップデートをダウンロード後、ローカルまたはポータブルデバイスに保存し、保存した場所からインストールを行います。このオプションにはインターネット接続は必要ありません。

自動でソフトウェアアップデートをインストール

1. オペレーティングシステムアカウントを sbsadmin に切り替えます。
2. コントロールソフトウェアのメニューを選択してから、[**Software Update**] を選択し、[Software Update] ダイアログボックスを開きます。

自動アップデートを設定したシステムは、ソフトウェアアップデートが利用できる場合には、アラートを表示します。

3. アップデートの設定には、次のいずれかのオプションを選択します。
 - **Check for Update** : ソフトウェアアップデートの確認をします。
 - **Autocheck for Updates** : ソフトウェアアップデートを確認し、以降のアップデートを自動的に確認するようシステムを設定します。

これらのオプションはインターネットに接続し、自動アップデートの設定をしていないシステムで表示されます。

4. [**Update**] 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閉じられ、インストールウィザードが表示されます。コントロールソフトウェアが自動的に再起動します。ファームウェアアップデートは再起動後自動的に始まります。

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. オペレーティングシステムアカウントを sbsadmin に切り替えます。
2. ソフトウェアアップデートが利用可能な場合、[iSeq 100 システムサポートページ](#)からスイートインストーラー (*.exe) 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。
3. インストーラーをポータブルドライブに保存した場合、装置背面の USB ポートにこのドライブを挿入します。背面にアクセスできるように装置を動かします。
4. コントロールソフトウェアメニューから [**Software Update**] を選択します。
5. [Software Update] ダイアログボックスで、[**Install from local or portable drive**] を開きます。
6. [**Browse**] を選択し、インストーラーの場所に移動します。
7. [**Update**] を選択し、インストールを開始します。

コントロールソフトウェアが閉じられ、インストールウィザードが表示されます。コントロールソフトウェアが自動的に再起動します。ファームウェアアップデートは再起動後自動的に始まります。

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。

シーケンスの出力

このセクションでは、Real-Time Analysis と Real-Time Analysis ワークフローについて詳しく説明します。

Real-Time Analysis の概要

Real-Time Analysis ソフトウェアは装置のコントロールコンピューターで実行します。シーケンスランの間、このソフトウェアはイメージから蛍光強度を抽出してベースコーリングを行い、ベースコールに対するクオリティスコアを評価します。

iSeq 100 システムは RTA (Real-Time Analysis の実装版) を使用します。RTA とコントロールソフトウェアがウェブ HTTP インターフェースを通じて通信し、メモリーファイルを共有します。RTA を終了すると、処理が再開されず、ランデータは保存されません。

i | デマルチプレックスの計算は実行されないなので、Sequencing Analysis Viewer で [Index] タブは表示されません。

入力ファイル

RTA が処理を行うために次の入力ファイルが必要です。

- ローカルシステムメモリーに含まれるタイルイメージ。
- XML 形式での Real-Time Analysis 設定ファイル。
- RunInfo.xml。ランの開始時にコントロールソフトウェアがこのファイルを自動的に生成します。

RTA は、RunInfo.xml の場所と出力フォルダーの指定の有無に関する情報を含む、コントロールソフトウェアからのコマンドを受け取ります。RunInfo.xml から、RTA はラン名、サイクル数、リードにインデックスを付けるかどうか、そしてフローセル上のタイル数を読み取ります。

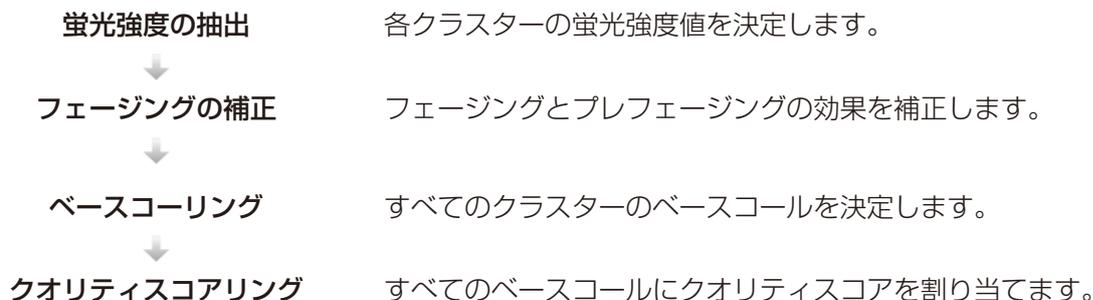
エラー処理

RTA はログファイルを生成し、それらを RTALogs フォルダーに書き込みます。エラーは、TSV ファイル形式でエラーファイルに記録されます。

処理の終了時に、以下のログファイルおよびエラーファイルは最終出力先に転送されます。

- *GlobalLog*.tsv には重要なランイベントが要約されています。
- *Error*.tsv にはラン中に起こったエラーが一覧表示されます。
- *WarningLog*.tsv にはラン中に起こった警告が一覧表示されます。

Real-Time Analysis のワークフロー



蛍光強度の抽出

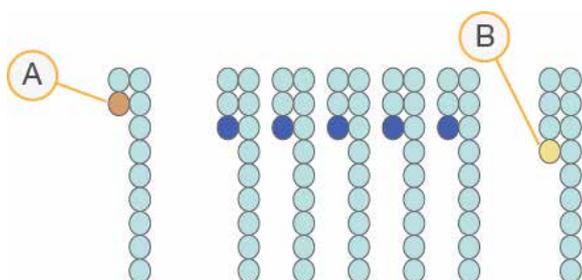
蛍光強度の抽出では、特定のイメージの各ナノウェルの強度値が計算されます。

フェージングの補正

シーケンス反応中は、クラスター中の各 DNA 鎖はサイクルごとに 1 ベースずつ伸長します。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。

- 1 塩基分、反応が遅れる方へずれるとフェージングが起こります。
- 1 塩基分、反応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 10 フェージングとプレフェージング



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

RTA によりフェージングとプレフェージングの影響を修正し、ラン実行中、すべてのサイクルでデータ品質を最大限にします。

クオリティスコアリング

クオリティスコア、または Q スコアは不正確なベースコールの確率の予測値です。高い Q スコアは、ベースコールのクオリティが高く、従ってそれが正しい可能性が高いことを示しています。

Q スコアは、小さな誤り確率をコンパクトに表現する方法です。Q(X) はクオリティスコアを示しており、X はそのスコアです。以下の表に、クオリティスコアとエラーの起こり易さの関連性を示します。

Q スコア Q(X)	エラーの起こり易さ
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)

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きます。

クオリティスコアリングは、各ベースコールについて、いくつかの予測モデルのセットを計算し、その値を Quality table から探索し Q スコアとして割り当てます。Quality table は、当該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得られるランに対して、最適なクオリティの予測値を与えるために作られています。

Q スコアを決定後、結果はベースコールファイルに保存されます。

出力ファイル

イメージはタイルとして RTA のメモリーに送られます。タイルは 1 つのカメラビューで特定したフローセルの小さなイメージエリアのことです。iSeq 100 i1 のフローセルは 16 タイルあります。

これらの画像から、RTA が一組のクオリティスコア化されたベースコールのファイルとフィルターファイルを一次出力として生成します。他のファイルは一次出力の生成を支援します。

ファイルタイプ	ファイルの説明、場所、名前
ベースコールファイル	解析されたタイルはそれぞれ、サイクルごとに 1 つのファイルに集約されて、ベースコールファイルに収められます。集約されたファイルには、各クラスターのベースコールおよび関連するクオリティスコアが含まれます。 Data\Intensities\BaseCalls\L001 [サイクル].bcl.bgzf、[サイクル] は 4 桁でサイクル数を表します。ベースコールファイルはブロック gzip 圧縮形式で圧縮されています。
ベースコールインデックスファイル	ベースコールインデックスファイルにはオリジナルのタイル情報が保存されません。インデックスファイルには、各タイルのタイル数とクラスター数が記録されています。 Data\Intensities\BaseCalls\L001 [サイクル].bcl.bgzf.bci
クラスターロケーションファイル	1 つのクラスターロケーション (s.locs) ファイルには、フローセル上の全クラスターの X、Y 座標が記録されています。 Data\Intensities s.locs
フィルターファイル	フィルターファイルは、クラスターがフィルターをパスしたかどうかを示します。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。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生成されます。 Data\Intensities\BaseCalls\L001 s_[レーン].filter
InterOp ファイル	ランの間にアップデートされるラン品質に関するリアルタイムのメトリクスです。これらバイナリーファイルは、タイル、サイクル、およびリードレベルメトリクスを含み、Sequencing Analysis Viewer でメトリクスを表示するのに必要とされます。 InterOp フォルダ
RTA 構成ファイル	ランのパラメーターを一覧表示します。このファイルは、ランの最初に作成され、入力設定ファイルの値と RTA が定義した値を統合したファイルです。 [Root フォルダ]、RTAConfiguration.xml
Run Information ファイル*	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、さらにスワスとタイルの数を一覧表示します。ランの初めに作成されます。 [Root フォルダ]、RunInfo.xml
サムネイルファイル	サムネイルはフローセルタイルのイメージです。 Images\L001\C[X.1] : ファイルは各レーンにつき 1 つのフォルダに保存され、各サイクルにつき 1 つのサブフォルダに保存されます。 s_[レーン]_[タイル].jpg : サムネイルイメージにはタイル番号が含まれません。

* コントロールソフトウェアによって生成されます。RTA は本表に示したすべての他のファイルを作成します。

Local Run Manager と BaseSpace Sequence Hub は、ベースコールファイルを FASTQ ファイルに自動的に変換します。Manual モードでのシーケンス時には、最新版の bcl2fastq2 Conversion Software を使用して FASTQ ファイルに変換してください。ソフトウェアは、イリミナウェブサイト上の [bcl2fastq Conversion Software のサポートページ](#) からダウンロードできます。

出力フォルダー名およびパス

各ランに対して、コントロールソフトウェアが自動的に出力フォルダーとランフォルダーを作成します。ランフォルダーのコピーである出力フォルダーからランデータにアクセスします。ランフォルダーはシステムが使用するためのものです。

出力フォルダーへのパスはユーザーが定義できますが、デフォルトは D: に設定されています。コントロールソフトウェアは次の形式を使って出力フォルダーに名前をつけます。

形式	例
< 年月日 >_< 装置 ID>_ < ラン番号 >_< フローセル ID>	20180331_FFSP247_4_BNS417-05-25-12

ラン番号は、システムがランを実行するたびに、1 つずつ増加します。シリアル番号が装置とフローセルを特定します。

出力フォルダーの構成

 **Recipe** : ラン固有のレシピファイル

 **Logs** : 装置の解析物、操作ステップおよびその他のイベントを記載したログファイル

 **Config** : ランの構成設定

 RunParameters.xml

 RunInfo.xml

 CopyComplete.txt

 RunCompletionStatus.txt

 RTAComplete.txt

 RTAConfiguration.xml

 **Data**

 **Intensities**

 **BaseCalls**

 **L001**

 s.locs

 **InterOp**

 **Images**

 SampleSheet.csv : サンプルシートまたはサンプルマニフェスト

 **RTALogs** : RTA イベントを記載したログファイル

ベースコーリング

ベースコーリングは、特定のサイクルで所定タイルのすべてのクラスターに対する塩基（A、C、GまたはT）を決定します。iSeq 100は1色法シーケンスを用いており、4塩基のデータをコードするために1種類の色素と2つのイメージを必要とします。

1番目のイメージから抽出した強度を2番目のイメージと比較することで4つの異なる集団に分類でき、各集団は1つのヌクレオチドにそれぞれ対応します。ベースコーリングにより、各クラスターが属する集団を決定します。

図 11 クラスターから抽出した強度の可視化

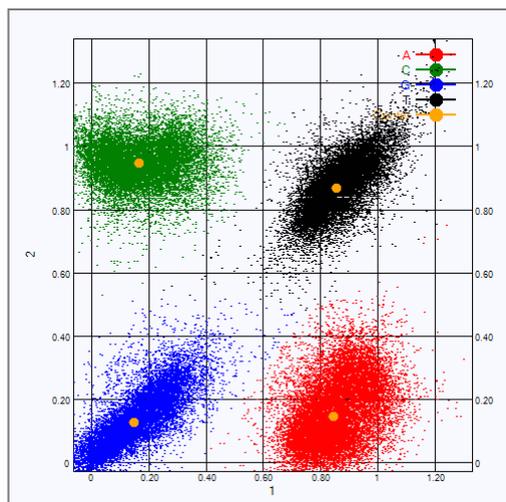


表 1 1色法シーケンスのベースコール

塩基	1番目のイメージの色素	2番目のイメージの色素	比較したイメージの結果
T	On	On	両方のイメージで強度を示すクラスターはT塩基。
A	On	Off	1番目のイメージのみで強度を示すクラスターはA塩基。
C	Off	On	2番目のイメージのみで強度を示すクラスターはC塩基。
G	Off	Off	どちらのイメージでも強度を示さないクラスターはG塩基。

Clusters Passing Filter

ラン中にRTA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。オーバーラップしていたり、低品質のクラスターが取り除かれます。

1色法シーケンスでは、RTAは集団ベースのシステムを用いて、ベースコールのChastity（強度の純度の値）を決定します。最初の25サイクルのうち、Chastity値が所定の閾値を下回るベースコールが1つ以下であった場合、そのクラスターはフィルターをパスします（PF）。

PhiXアライメントは、サイクル26の時点で、タイルのサブセットごとに、フィルターをパスしたクラスターに対して実行されます。フィルターをパス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。

インデックスリード

インデックスリードのベースコーリングは、他のリードのベースコーリングと異なります。インデックスリードの先頭 2 サイクルが 2 塩基の G 以外で始まる必要があり、そうでなければ、蛍光強度が生成されません。デマルチプレックスを確実に実施するために、初めの 2 サイクルのどちらにも蛍光強度がなくてはなりません。

ライブラリープールの少なくとも 1 つのインデックスアダプターシーケンスは G 塩基 2 個から始まっていないことを確認してください。バランスの取れたインデックスアダプターシーケンスを選択することで、各サイクルに少なくとも 1 イメージ（両方のイメージが好ましい）にシグナルが存在します。インデックスキットに示されたプレートレイアウトおよびシーケンスは適切なバランスが取れるようデザインされています。

インデックスおよびプーリングについては、『[Index Adapter Pooling Guide](#)』（1000000041074）を参照してください。

トラブルシューティング

このセクションでは、iSeq 100 の操作中に発生する可能性がある問題の解決方法について詳しく説明します。

開始したランの取り消し

ランが開始された後、ランを取り消して終了し、カートリッジを取り出し、[Sequence] 画面に戻ることができます。

! | ランの取り消しは**終了**を意味します。装置チェックの一部であるプレランチェックの後には、ソフトウェアはランを再開できず、消耗品は再使用できません。

1. **[Stop Run]** を選択してから、**[Yes, cancel]** を選択します。
[Sequencing Canceled] 画面はランが停止した日時のタイムスタンプとともに表示されます。
2. **[Eject Cartridge]** を選択すると、ドアが開き、トレイが出ます。
3. トレイからカートリッジを取り出します。
4. 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	手順
装置チェック前または装置チェック中に取り消しを行い、消耗品を再使用したい場合。	フローセルとライブラリーをカートリッジの中に残したままにし、最大 1 時間室温で置いておきます。
その他すべての場合。	フローセルをカートリッジから取り出します。地域の適切な基準に従って、両方のコンポーネントを廃棄します。 <ul style="list-style-type: none"> • フローセルには電子機器コンポーネントがあります。 • カートリッジは廃液とライブラリーが含まれています。

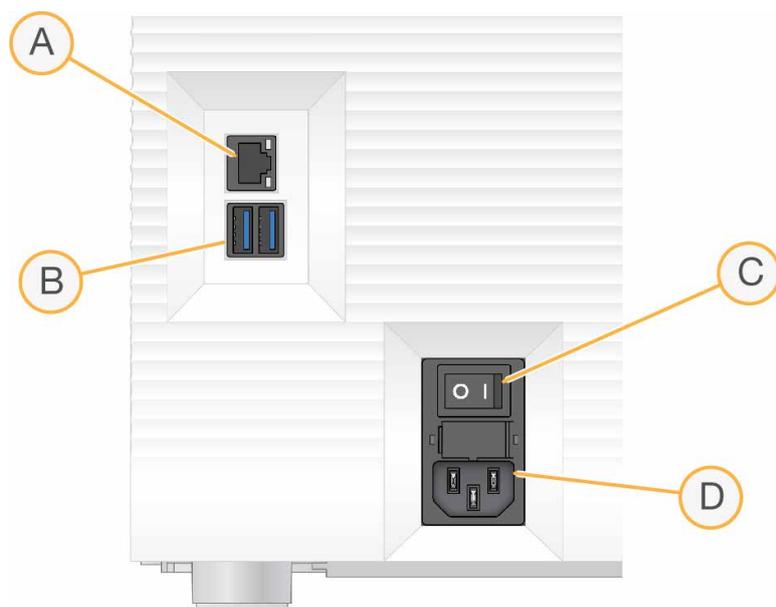
5. **[Close Door]** を選択し、トレイを再ロードして [Sequencing] 画面に戻ります。
センサーがカートリッジの取り出しを確認します。

装置の再起動

装置の再起動は、接続不明の状態の回復、仕様の調節や初期化時の不具合の解決を行う目的でシステムの安全なシャットダウンおよび再始動を行います。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の再起動のタイミングを示しています。

1. コントロールソフトウェアメニューから [**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、装置左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、背面パネルのトグルスイッチの電源をオフ (O) 側に押します。
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 12 背面パネルコンポーネント

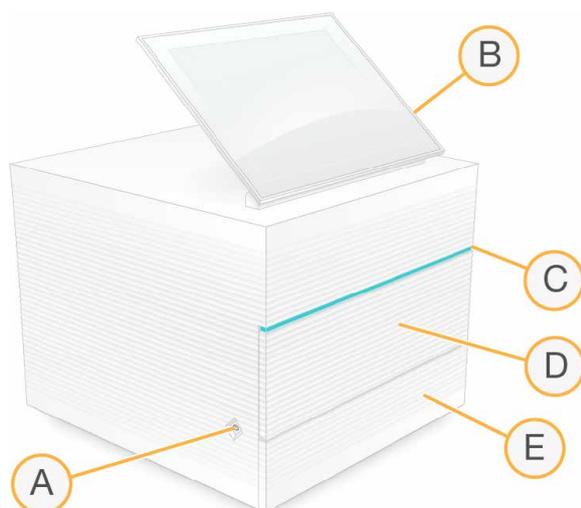


- A. **イーサネットポート**：オプションのイーサネットケーブル接続用です。
- B. **USB ポート**：補助的なコンポーネントを接続するために 2 ポートあります。
- C. **トグルスイッチ**：装置の電源のオンとオフを行います。
- D. **AC 電源インレット**：電源コードの接続用です。

4. 30 秒間待機します。
5. トグルスイッチの電源をオン (I) 側に押します。
6. 電源ボタンが点滅したら押してください。
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、システムを初期化します。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 [Home] 画面が表示されます。

図 13 外部システムコンポーネント



- A. **電源ボタン**：装置の電源をコントロールし、システムがオン（点灯）、オフ（消灯）、または AC 電源が入ったままのオフ（点滅）を示します。
- B. **タッチスクリーンモニター**：iSeq 100 Control Software インターフェースによりシステムの設定およびセットアップができるようにします。
- C. **ステータスバー**：システムステータスを示し、シーケンスの準備ができる状態は緑、処理中は青、注意が必要な場合はオレンジになります。
- D. **消耗品コンパートメント**：ラン中の試薬を格納します。
- E. **ドリフトレイドア**：漏れた液体を受け止めるドリフトレイにアクセスします。

システムチェックの実施

システムチェックには、約 45 分かかり、再使用可能テスト用フローセルおよび再使用可能テスト用カートリッジを使用し、プレランチェックエラーおよびその他の問題を解決します。4 つのサブシステムテストによって、どのコンポーネントが適切に配置し、機能しているかを確認します。

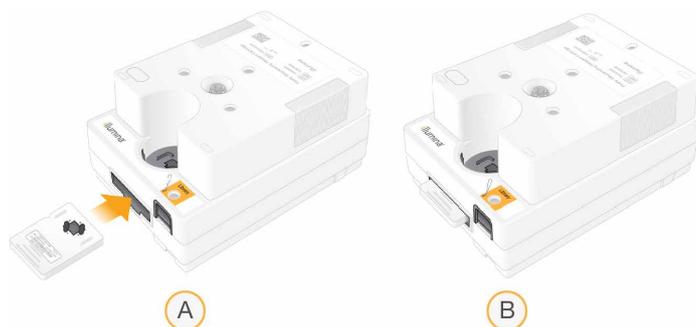
通常のオペレーションおよびメンテナンスではシステムチェックは必要ありません。

1. 室温保存していた再使用可能テスト用フローセルおよび再使用可能テスト用カートリッジを取り出します。
2. コントロールソフトウェアメニューから **[System Check]** を選択します。
[System Check] ダイアログボックスは、選択した機械的テスト、温度テスト、光学テストおよびセンサーテストとともに表示されます。
3. **[Unload]** を選択すると、カートリッジコンパートメントドアが開き、トレイが出ます。
4. カートリッジがある場合は、トレイから使用済みカートリッジを取り出します。
5. 再使用可能テスト用フローセルのガラス表面に目視できるごみがないか確認します。ごみがある場合、次のようにして洗浄します。
 - a. アルコールワイプでガラス表面をクリーニングします。
 - b. ラボ用リントフリー紙で乾かします。
 - c. フローセルに細かいごみがないことを確認します。

通常の場合では、再使用可能テスト用フローセルはクリーニングが必要ありません。

6. ラベルが上を向いた状態で再使用可能テスト用フローセルのグリップポイントを持ちます。

7. 再使用可能テスト用フローセルを再使用可能テスト用カートリッジの前面のスロットに挿入します。カチッという音によりフローセルが固定されたことが分かります。適切にロードされると、グリップがカートリッジから突き出し、ガラスがアクセスウィンドウから見えるようになります。



- a. 再使用可能テスト用フローセルをロード
 - b. ロードした再使用可能テスト用フローセル
8. 再使用可能テスト用カートリッジをトレイに乗せるとアクセスウィンドウが上を向き、フローセルが装置の奥側にセットされます。



9. **[Load]** を選択すると、再使用可能テストカートリッジをロードし、ドアが閉まります。

10. **[Start]** を選択し、システムチェックを開始します。

システムチェックの間、ソフトウェアは一度カートリッジを出して再び格納します。

i | 再使用可能テスト用フローセルおよび再使用可能テスト用カートリッジは、36 回使用するか、製造日から 5 年間は有効です。残り使用回数が画面に表示されます。

11. システムチェックが完了したら、各テストの合否を確認します。

結果	指示	措置
4つのテストすべてに合格	装置は適切に機能しており、問題は消耗品またはライブラリーに関連する可能性があります。	新しいランをセットアップします。前回のランの消耗品が保管されている場合は、その消耗品を新しいランに使用します。
1つ以上のテストに不合格	装置のハードウェアに問題がある可能性があります。	イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。

12. 再使用可能テスト用カートリッジを排出するため **[Unload]** を選択します。
13. トレイから再使用可能テスト用カートリッジを取り出します。
14. カートリッジから再使用可能テスト用フローセルを取り出します。
15. 元の包装に再使用可能テスト用コンポーネントを戻し、室温で保管します。
16. **[System Check]** ダイアログボックスを閉じます。

工場出荷時の設定を回復

システムを工場出荷時の設定に回復することで、ソフトウェアをダウングレード、望まない設定からの回復、または装置をイルミナに返品前のユーザーデータの消去を行います。システムを回復すると、コントロールソフトウェアがアンインストールされ、Cドライブが消去されます。

1. Local Run Manager 用のリファレンスゲノムレポジトリがCドライブにある場合は、以下の手順を実行します。
 - a. レポジトリを D:\Illumina\Genomes か、Cドライブ以外の他のローカルフォルダーまたはネットワークフォルダーに移動します。
 - b. Local Run Manager でレポジトリパスを D:\Illumina\Genomes か、Cドライブ以外の他のローカルフォルダーまたはネットワークフォルダーに再設定します。手順については、イルミナ [サポートセンター](#) の『Local Run Manager Software Guide』(1000000002702) を参照してください。
2. Windows を再起動します。
3. オペレーティングシステムを選択するよう指示がある場合は、**[Restore to Factory Settings]** を選択します。

iSeq 100 Control Software が自動的に開始する前に、オペレーティングシステムオプションが短く表示されます。
4. 回復プロセスが完了するまで約 30 分間待機します。

回復プロセスには数回のリブートが含まれる場合があります。完了すると、システムはコントロールソフトウェアが入っていない、元の工場出荷時の設定をリブートします。
5. コントロールソフトウェアをインストールします。
 - a. iSeq 100 システムサポートページからソフトウェアインストーラーをダウンロードします。インストーラーをネットワークローケーションまたはポータブル USB ドライブに保存します。
 - b. インストーラーを C:\Illumina にコピーします。
 - c. iSeqSuiteInstaller.exe を開き、指示に従ってインストールを実行します。
 - d. アップデートが完了したら、**[Finish]** を選択します。
 - e. 装置を再起動します。手順については、[46 ページの「装置の再起動」](#) を参照してください。

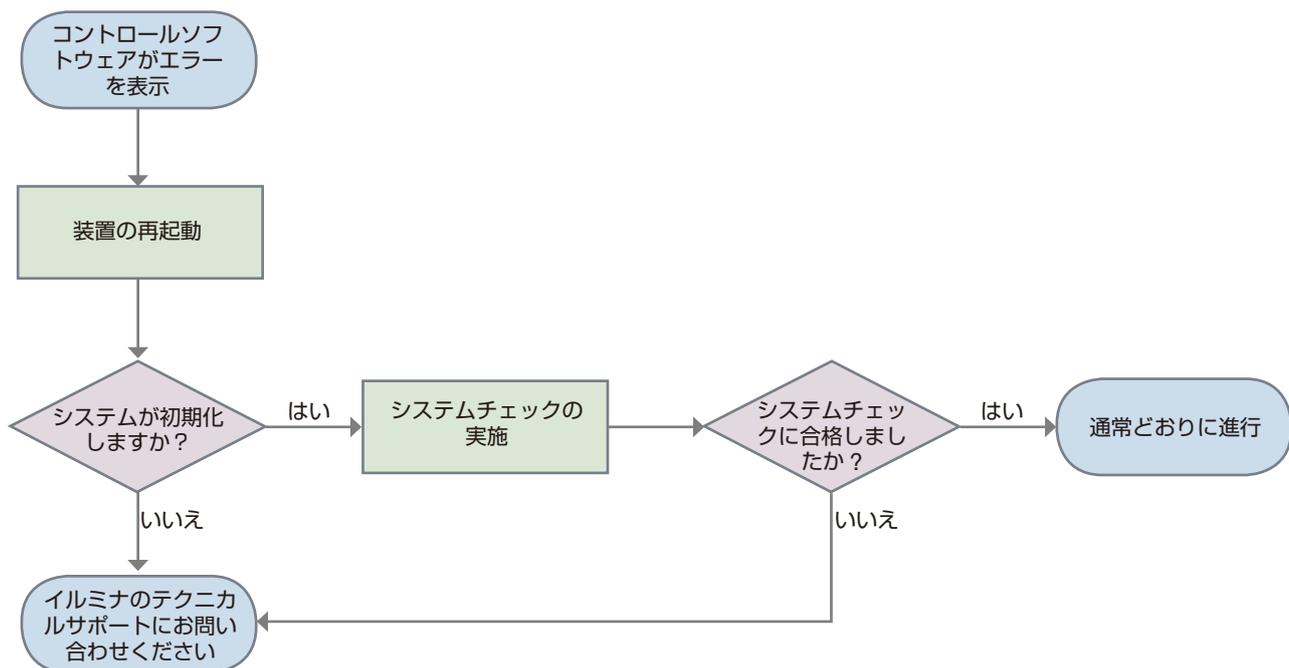
6. 画面上の指示に従って、再使用可能テスト用カートリッジおよび再使用可能テスト用フローセルを使用してシステムチェックを含む初回セットアップを実行します。
7. Local Run Manager 解析モジュールをインストールします。
 - a. オペレーティングシステムを sbsadmin アカウントに切り替えます。
 - b. Local Run Manager サポートページからソフトウェアインストーラーをダウンロードします。インストーラーをネットワークローケーションまたはポータブル USB ドライブに保存します。
 - c. インストーラーを c:\Illumina にコピーします。
 - d. インストーラー (*.exe) を開き、指示に従ってインストールを実行します。
 - e. アップデートが完了したら、[Finish] を選択します。

エラーメッセージの解消

次のフローチャートは、初期化中、ランセットアップ中、プレランチェック中、または再試行で解決されないシーケンス中に表示されるエラーメッセージのトラブルシューティングのためのワークフローを示しています。

多くのエラーが装置の電源を切って再び始動する再起動により解決されます。その他の場合はシステムチェックを行い、診断と解決を行う必要があります。

図 14 エラーメッセージの概要



Process Management Status

[Process Management] 画面のステータス問題を解決するには、以下を実行します。

- ランが進行中の場合は、[Process Management] 画面を閉じ、約 5 分間待機してから再び画面を開いてください。
- 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。詳細については、[46 ページの「装置の再起動」](#)を参照してください。

漏れの緩和

送液接続部の不具合、カートリッジの問題、漏れがプレランチェックまたはシーケンス中に検出された場合は、ソフトウェアはランを停止して、通知します。漏れている箇所を評価し、装置をクリーニングした後、システムチェックにより通常の実操作を継続できるかどうか確認されます。

装置の底部のドリフトレイはカートリッジから漏れた液体を受け止めます。しかし、漏れた液体はその他のシステム領域にも達することがあります。通常の場合では、ドリフトレイは乾いています。

漏れている箇所の評価

1. 新しいパウダフリーの手袋をつけます。

! 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。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、および安全の情報については、jp.support.illumina.com/sds.html に掲載の SDS を参照してください。

2. 画面に表示される指示に従ってカートリッジを取り出します。
3. カートリッジに目視できる液体があるかを調べます。
フローセル上のガラス表面の少量の液体 (< 500 µL) は許容範囲内です。
4. 目視できる液体がない（または許容範囲内の液体量）場合は、[51 ページの「装置のクリーニング」](#)に進んでください。クリーニング終了後、システムが正常な動作を確認します。
5. フローセル、カートリッジまたは装置に目視できる多量の液体がある場合は、次のようにシャットダウンを行って切断し、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。
 - a. メニューから、**[Shut Down System]** を選択します。
 - b. シャットダウンコマンドが反応しない場合は、装置左側の電源ボタンを光が消えるまで押し続けます。
 - c. 電源ボタンが点滅したら、装置背面のトグルスイッチの電源をオフ（○）側に押します。
 - d. 30 秒間待機します。
 - e. コンセントから電源コードを抜き、背面パネルの AC 電源インレットから電源コードを抜きます。
 - f. 該当する場合、イーサネットケーブルを壁のアウトレットから抜き、背面パネルのイーサネットポートからケーブルを抜きます。

装置のクリーニング

1. 次のように装置の電源を切ってコンセントから抜きます。
 - a. メニューから、**[Shut Down System]** を選択します。
 - b. シャットダウンコマンドが反応しない場合は、装置左側の電源ボタンを光が消えるまで押し続けます。
 - c. 電源ボタンが点滅したら、装置背面のトグルスイッチの電源をオフ（○）側に押します。
 - d. 30 秒間待機します。
 - e. コンセントから電源コードを抜き、背面パネルの AC 電源インレットから電源コードを抜きます。
 - f. 該当する場合、イーサネットケーブルを壁のアウトレットから抜き、背面パネルのイーサネットポートからケーブルを抜きます。

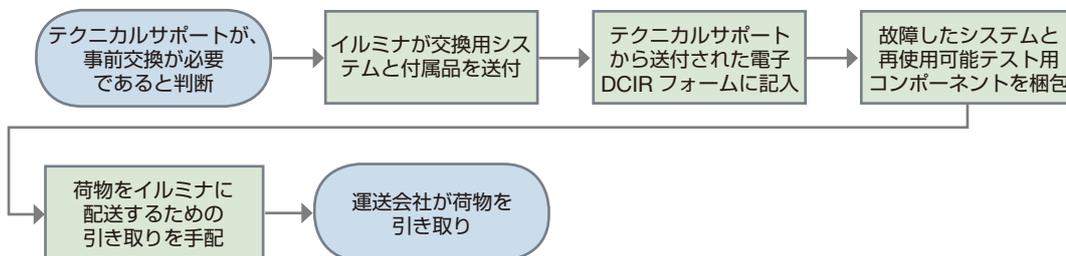
2. ペーパータオルを使って装置の上や周りの目視できるすべての液体を拭いて乾燥させます。
3. 次のように装置の電源を入れ再接続します。
 - a. 該当する場合、イーサネットケーブルをイーサネットポートに接続します。
 - b. 背面パネルの AC 電源インレットに電源コードを接続して、コンセントに接続します。
 - c. 背面パネルのトグルスイッチの電源をオン (I) 側に押します。
 - d. 電源ボタンが点滅したら押してください。
 - e. オペレーティングシステムがロードされたら、Windows にログオンします。
 コントロールソフトウェアが起動し、システムを初期化します。初期化が完了すると [Home] 画面が表示されます。
4. システムチェックを実施し、システムが正常に機能することを確認します。
 システムチェックの合格は、装置が通常の実操作を再開できることを示しています。手順については、[47 ページの「システムチェックの実施」](#)を参照してください。

事前交換

エアフィルターおよびドリフトレイパッドだけが iSeq 100 で修理が可能な部品であるため、イルミナはリモートで解決できない問題の修復には事前交換を行います。

事前交換では、損傷または故障したシステムを修理済みのシステムと交換します。ダウンタイムを最小化するために、オリジナルの製品を送り返す前に交換用システムを受け取ります。

図 15 事前交換の概要



可能な地域

事前交換は多くの地域で利用可能です。その他の地域では現場サービスエンジニアに委託することができます。お使いの地域で利用可能なサポートモデルについては、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。

交換用システムの受け取り

1. システムチェックおよびその他のトラブルシューティングの試みに失敗している場合は、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。
 - 可能であれば、異なる再使用可能テスト用カートリッジおよび再使用可能テスト用フローセルを用いて別のシステムチェックを実施してください。
 - システムチェックの結果はテクニカルサポートが利用できるようにしてください。

テクニカルサポートがリモートで問題を解決できない場合は、返品処理が開始され、交換用システムが注文されます。

2. 交換用システムを受け取ったら、以下の手順を実行します。
 - 包装を解き、『iSeq 100 Sequencing System Setup Poster』(1000000035963)に従って設置します。
 - **梱包物すべてを保存しておいてください。**これはオリジナルシステムおよび再使用可能テスト用コンポーネントを返品のために梱包する際に使用します。
 - 返品用文書を横に置いておきます。この文書には、すべての出荷に対する UPS 返品ラベルおよびコマーシャルインボイス（海外発送用）が含まれます。

オリジナルシステムの返品準備

交換した装置を受け取ってから 30 日以内に、オリジナルシステム、再使用可能テスト用カートリッジおよび再使用可能テスト用フローセルをイルミナに送り返してください。

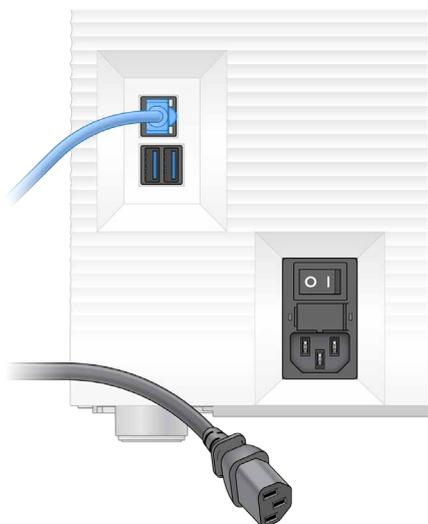
データの消去とシャットダウン

1. システムの電源が入っている場合は、以下のようにしてデータの保存と消去を行います。
 - a. File Explorer から、保存したいファイルとフォルダーすべてをポータブル USB ドライブにコピーします。
 - b. イルミナと共有したくないすべてのファイルおよびフォルダーを削除します。
シーケンスデータの場所はユーザーが定義しますが、D ドライブがデフォルトで設定されている場所です。
2. 次のようにシステムをシャットダウンします。
 - a. メニューから、**[Shut Down System]** を選択します。
 - b. シャットダウンコマンドが反応しない場合は、装置左側の電源ボタンを光が消えるまで押し続けます。
 - c. 電源ボタンが点滅したら、装置背面のトグルスイッチの電源をオフ（O）側に押します。
 - d. 30 秒間待機します。
 - e. コンセントから電源コードを抜き、背面パネルの AC 電源インレットから電源コードを抜きます。
 - f. 該当する場合には、イーサネットケーブルを壁のアウトレットから抜き、背面パネルのイーサネットポートからケーブルを抜きます。

コードとケーブルの取り外し

1. カートリッジが装置の中にある場合には、システムを再起動し、次のようにカートリッジを取り出します。
 - a. 背面パネルのトグルスイッチの電源をオン（I）側に押します。
 - b. 電源ボタンが点滅したら押してください。
 - c. オペレーティングシステムがロードされたら、Windows にログインします。
 - d. コントロールソフトウェアメニューから **[System Check]** を選択します。
 - e. **[Unload]** を選択し、カートリッジを出して、トレイからカートリッジを取り出します。
 - f. 取り出しに失敗する場合には、詳しい手順についてイルミナテクニカルサポートにお問い合わせください。
 - g. **[Load]** を選択すると、空のトレイを格納し、ドアが閉まります。
 - h. **[System Check]** ダイアログボックスを閉じ、システムをシャットダウンします。システムの再起動とシャットダウンはカートリッジを取り外せる位置に持つために必要です。

2. コンセントから電源コードを抜き、背面パネルの AC 電源インレットから電源コードを抜きます。



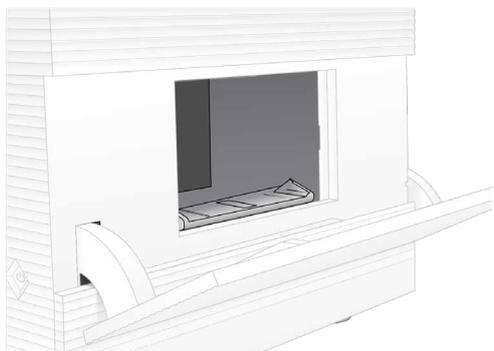
3. 該当する場合、次を実施してください。
 - イーサネットケーブルを壁のアウトレットから抜き、背面パネルのイーサネットポートからケーブルを抜きます。
 - 背面パネルの USB ポートからキーボードおよびマウスを抜きます。

装置の除染

装置を配送するには次の除染手順を行う必要があります。これはイルミナが確認できているものに関する手順です。バイオセーフティレベル 2 または 3 の実験室および施設特有の危険がある環境で運用していたシステムでは、追加の除染が必要になる可能性があります。

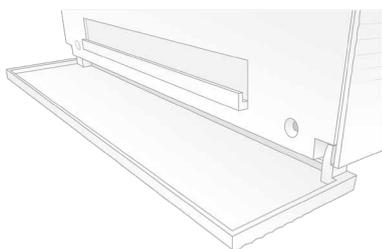
漂白剤による除染

1. 新しいパウダフリーの手袋をつけます。
2. 装置モニターを下げます。
3. 横の端からカートリッジコンパートメントのドアをゆっくりと引っ張って開きます。

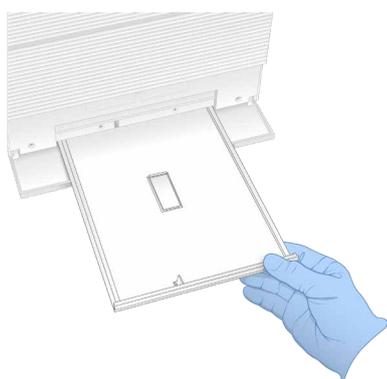


4. 漂白ワイプでコンパートメントドア全体をクリーニングします。
 - ドア内部
 - ドア外部
 - ドア留め具

5. カートリッジコンパートメントのドアを閉めます。
6. 装置前面のカートリッジコンパートメントの下にあるドリップトレイドアを下げます。



7. ドリップトレイを開け、ドリップトレイパッドを取り出します。



8. ペーパータオルを使ってトレイの下に残っている液体を拭き取ります。
9. 地域ごとに異なる適切な基準に従って、パッドおよびその他の消耗品を廃棄します。
詳細については、jp.support.illumina.com/sds.html にある安全データシート (SDS) を参照してください。
10. 漂白ワイブでドリップトレイを洗浄します。
11. 効果がでるまで 15 分間待機します。

アルコールによる中和

1. 布またはペーパータオルを水で湿らせます。
水道水などのグレードの水でも使用できます。
2. 湿った布またはペーパータオルで次のコンポーネントを拭きます。
 - ドリップトレイ
 - カートリッジコンパートメントドア（留め具を含んだ内側と外側）
水は漂白剤とアルコールが混ざるのを防ぎます。
3. アルコールワイブで以下のコンポーネントを再度クリーニングします。
 - ドリップトレイ
 - カートリッジコンパートメントドア（留め具を含んだ内側と外側）
アルコールは腐食の原因となる残留した漂白剤を取り除きます。
4. ドリップトレイドアおよびカートリッジコンパートメントのドアが閉まっていることを確認します。
5. 漂白ワイブまたは漂白液で装置周辺のラボベンチをクリーニングします。

オリジナルシステムの返品

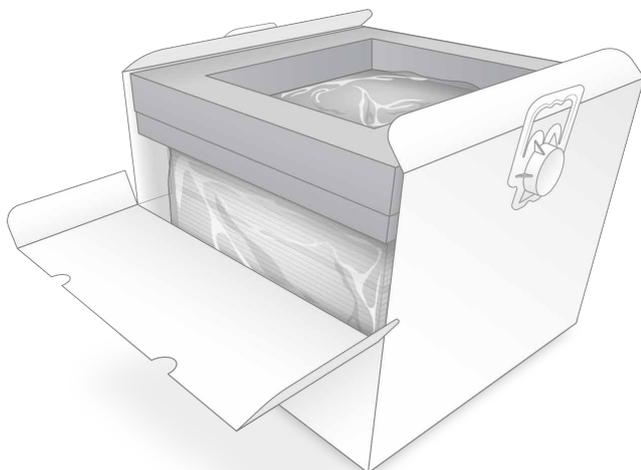
以下のセクションでは、iSeq 100 の返品手順について説明します。

装置の梱包

1. 装置と梱包のためにラボの適当な場所を片付けます。
2. モニターの下側と装置の間に小さな発泡体パッドを挿入します。
3. グレーのプラスチックバックを装置に被せます。



4. 白い箱の前面のフラップを下げます。
5. 装置を白い箱に入れると、装置の前面が正面にきます。
6. 四角い発泡体を装置に被せて置きます。そうすることで発泡体の薄い側が装置の前面と背面にくるようになります。発泡体が箱の上で平らになっていることを確認します。

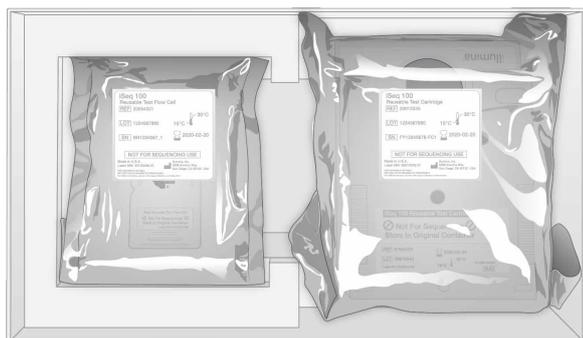


7. 前面のフラップを閉じ、箱の上部を閉じます。

再使用可能テスト用コンポーネントの梱包

1. iSeq 100 再使用可能テスト用カートリッジを大きい方の再封可能な袋に入れ、封をします。
2. iSeq 100 再使用可能テスト用フローセルをクラムシェルケースに入れます。
3. クラムシェルケースを小さい方の再封可能な袋に入れ、封をします。

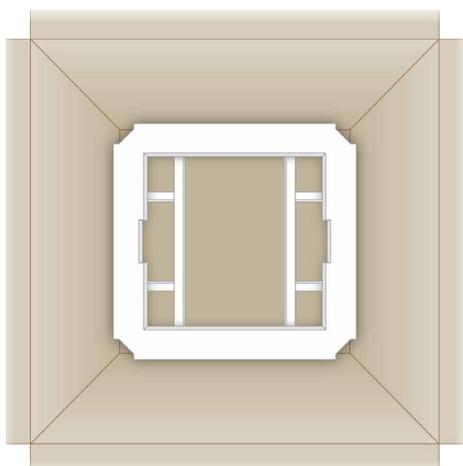
4. 両方の再封可能な袋を iSeq 100 システムのアクセサリ用箱に入れます。



5. アクセサリ用箱を閉じます。

システムの配送

1. 保護用発泡体の底敷きを取り除いた場合は、茶色の配送箱の下に入れます。

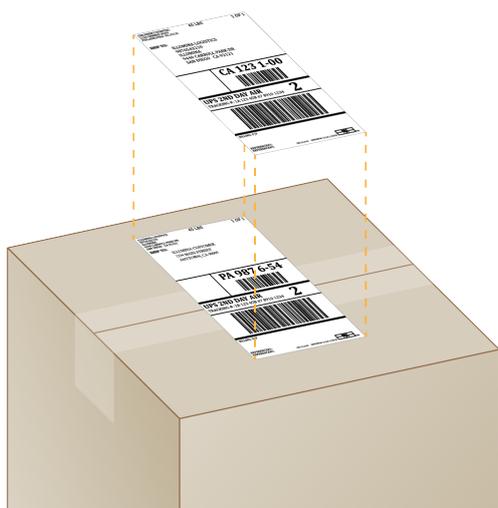


2. 取手を持ち、白い箱を持ち上げ（2人で持ち上げることを推奨します）、白い箱を茶色の箱に入れます。どの向きでも大丈夫です。

! 白い箱は茶色の箱の中に入れて配送するようにしてください。白い箱は配送用またはラベルの貼り付け用に設計されていません。

3. 保護用発泡体を白い箱の上に被せて置きます。
4. アクセサリ用箱を発泡体カバーの中央に置きます。
5. アクセサリ用箱の上に黒い発泡体パッドを置きます。
6. イルミナのテクニカルサポートから電源コードを返却するよう求められた場合は、茶色の箱のいずれかの場所に入れます。
7. 茶色の箱を閉じ、梱包テープでしっかりと閉じます。

8. 返品ラベルをオリジナルの配送ラベルの上に貼ります。または、オリジナルの配送ラベルを剥がします。



9. (国際配送) コマーシャルインボイスを配送箱に貼ります。

10. UPS 経由でイルミナに装置を送り返します。

- ラボで定期的に UPS の配送予定があれば、ラベルを貼った配送箱をドライバーに渡します。
- 定期的に UPS 配送がない場合は、イルミナカスタマーサービスにお知らせいただければ返品配送のスケジュールが可能です。

リソースおよび参考資料

イルミナサポートセンターの iSeq 100 システムサポートページでは追加のリソースを提供しています。これらのリソースには、トレーニング、適合製品、およびその他の検討事項が含まれています。常に最新バージョンのサポートページをご確認ください。

追加リソース

イルミナウェブサイトの [iSeq 100 システムサポートページ](#)では追加のシステムリソースを提供しています。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を含みます。常に最新バージョンのサポートページをご確認ください。

リソース	内容説明
Custom Protocol Selector	使用するライブラリー調製法、ランパラメーター、および解析方法に合った全体の手順を生成するツールおよび詳細な設定を調整するためのオプションについて説明します。
『iSeq 100 Sequencing System Setup Poster』 (1000000035963)	装置の設置手順および初回セットアップ開始手順を提供します。

リソース	内容説明
『iSeq 100 Sequencing System Site Prep Guide』 (1000000035337)	ラボスペース、電源要件、および環境とネットワークの検討事項に関する仕様を示しています。
『iSeq 100 Sequencing System Safety and Compliance Guide』 (1000000035336)	操作の安全検討事項、コンプライアンスステートメント、装置のラベルに関する情報を提供します。
『RFID Reader Compliance Guide』 (1000000002699)	装置のRFIDリーダーについて、コンプライアンス認証、安全検討事項などの情報を提供します。
『iSeq 100 Sequencing System Custom Primers』 (200008671)	イルミナシーケンスプライマーをカスタムシーケンスプライマーに置き換えるための情報を提供します。

改訂履歴

文書	日付	変更内容
文書番号：1000000036024 v09	2021年 11月	試薬カートリッジの画像を修正。
文書番号：1000000036024 v08	2021年 11月	カスタムプライマーの使用に関する内容を追加。 ライブラリー量およびローディング濃度を更新。 『iSeq 100 Sequencing System Custom Primers』 (200008671) への参照を追加。
文書番号：1000000036024 v07	2020年 4月	8 pack セットの内容物および保管情報を追加。 希釈方法の中のライブラリーとRSBの量を更新。
文書番号：1000000036024 v06	2020年 4月	iSeq 100 i1 Reagent v2 をサポートする iSeq Control Software v2.0 のソフトウェア説明を更新。 iSeq 100 i1 Reagent を以下のキットで置き換え： <ul style="list-style-type: none"> イルミナ、カタログ番号 20031371、iSeq 100 i1 Reagent v2 イルミナ、カタログ番号 20031374、iSeq 100 i1 Reagent v2 (4 pack) ソフトウェアと試薬の適合性についての情報を追加。 iSeq 100 i1 v2 カートリッジのローディング濃度を追加。 Nextera XT DNA ライブラリーの希釈方法を追加。 カートリッジの適切な保管方向を示す記号を追加。 2°C～8°Cでの最大カートリッジ融解時間を1週間に延長。 再使用可能テスト用コンポーネントの使用回数を130回に増加。 多様性の低いライブラリーのPhiX添加の推奨を10%に更新。 iSeq 100 i1 v2 カートリッジを表す図を更新。 ソフトウェアアップデートのインストールに関する手順を、レジストリエディターを含むように更新。 事前交換に関する情報を以下のように更新。 <ul style="list-style-type: none"> 手順の概要を示すフローチャートを追加。 返品を行うために必要な文書を列挙。 引き取りを手配する方法を明記。 バイオセーフティレベル2と3の実験室では、追加の除染が必要になる可能性があることを明記。 パスワードの要件と Software Restriction Policies (SRP) を『iSeq 100 Sequencing System Site Prep Guide』(1000000035337) に移動。

文書	日付	変更内容
文書番号：1000000036024 v05	2019年 3月	<p>iSeq Control Software v1.4 のソフトウェア説明を更新。</p> <ul style="list-style-type: none"> • ユーザーインターフェース要素の移動や名称変更など、システム設定を変更する方法についての手順を更新。 • シーケンス画面に表示される %Clusters PF と %Occupancy メトリクスの説明を追加。 • マッピングされたネットワークドライブ上の場所を、サンプルシートおよび出力フォルダーに使用することを許可。 • サンプルシートの名前が自動的に SampleSheet.csv に変更されることを明記。 <p>以下のページへのリンクを追加：</p> <ul style="list-style-type: none"> • 『iSeq 100 System Sample Sheet Template for Manual Mode』。 • bcl2fast Conversion Software のサポートページ。準備のための 1 nM 100% PhiX と AmpliSeq Library PLUS for Illumina ライブラリーの量を追加。 <p>システムを工場出荷時の設定に戻すときに、Local Run Manager 用のリファレンスゲノムレポジトリを C ドライブ以外の場所に移動するための手順を追加。インデックスリード 1 とインデックスリード 2 の最大推奨サイクル数を、それぞれ 10 サイクルに増加。カートリッジがサポートするサイクル数を 322 に増加。</p> <p>ローディング濃度の最適化の詳細について、『Cluster Density Optimization Guide』（文書番号：1000000071511）を参照。</p>
文書番号：1000000036024 v05	2019年 3月	<p>ウォーターバスで融解する前に、最低 1 日はカートリッジを -25℃～ -15℃で保管する必要があることを明記。</p> <p>AmpliSeq for Illumina Library PLUS を AmpliSeq Library PLUS for Illumina に修正。</p>

文書	日付	変更内容
文書番号：1000000036024 v04	2018 年 10 月	<p>Nextera DNA Flex for Enrichment、TruSeq DNA Nano、および TruSeq DNA PCR-Free ライブラリーに対する推奨ローディング濃度および希釈方法を追加。 一本鎖ライブラリーを生成しないノーマライゼーション法を用いる情報を追加。 2つのランモード、Local Run Manager モードおよび Manual モードの説明を追加。 5%の PhiX 添加オプションを追加し、各添加割合の目的を明記。 以下のステップを追加：</p> <ul style="list-style-type: none"> • コントロールソフトウェア、解析モジュール、およびその他のソフトウェアをインストールする際に、オペレーティングシステムを sbsadmin アカウントに切り替える。 • 工場出荷時の設定を回復する際に装置を再起動する。サンプルシートのインデックス 2 (i5) の方向を特定するために、『Illumina Adapter Sequences』（文書番号：1000000002694）を参照。 <p>以下の点を明記：</p> <ul style="list-style-type: none"> • カートリッジは融解後すぐに使用する必要がある。 • Nextera DNA Flex および Nextera Flex for Enrichment ライブラリーに示されたローディング濃度は、その他の Nextera ライブラリータイプには適用できない。 • SureCell WTA 3' は互換性のあるライブラリーではない。
文書番号：1000000036024 v03	2018 年 8 月	<p>iSeq Control Software v1.3 のソフトウェア説明を更新。</p> <ul style="list-style-type: none"> • Universal Copy Service に対する設定方法を追加。 • [Network Configuration] タブを [Network Access] に名称変更。 • コントロールソフトウェアから Local Run Manager を開く方法を追加。 <p>デフォルト出力フォルダーの場所を D:\SequencingRuns に更新。 システムをプロキシサーバーに接続する方法を追加。 ネットワーク上の出力フォルダーおよびサンプルシートの場所に対する UNC パスを指定するための要件を追加。 内部ドライブ、外部ドライブ、またはネットワークの場所に関する出力フォルダー場所を設定するための固有要件を記載。 ランセットアップの最初のステップで Manual モード用のサンプルシート作成に関する説明を記載。 システムスーツインストールウィザードの使用に関する説明を修正。 出力サムネイルファイルの記述を修正。</p>

文書	日付	変更内容
文書番号：1000000036024 v02	2018年 6月	希釈したライブラリーに用いるチューブを Fisher Scientific、カタログ番号 14-222-158 または同等品の低吸着チューブに更新。 事前交換が可能な地域に関する記述セクションを追加。 ローディング濃度に希釈したライブラリーはその日にシーケンスを行わなければならないことを明記。 試薬カートリッジは融解するために箱から取り出す必要があることを明記。
文書番号：1000000036024 v01	2018年 5月	iSeq Control Software v1.2 のソフトウェア説明を更新。 <ul style="list-style-type: none"> コントロールソフトウェアからダウンロードしたソフトウェアインストーラーを閲覧するためのオプションを追加。 サムネイル保存の説明を追加。 ネットワーク設定を [Network Configuration] タブに移動。 再使用可能テスト用コンポーネントの最大使用回数を 36 回に増やし、残り回数が画面に表示されることを記載。 Local Run Manager 情報を更新： <ul style="list-style-type: none"> Local Run Manager を開き、ランセットアップを行うためのステップを追加。 事前にインストールされた解析モジュールとして RNA Amplicom、およびその他のサポートされるモジュールとして DNA Enrichment および Resequencing を追加。 『Local Run Manager Software Guide』(文書番号：1000000002702) への文書参照を更新。 カートリッジ融解方法を次のように更新： <ul style="list-style-type: none"> 室温融解オプションを追加。 融解前の保管を含めたウォーターバスの詳細な説明を記載。 シーケンス用ライブラリー調製の説明を更新： <ul style="list-style-type: none"> Nextera DNA Flex のローディング濃度を 200 pM に更新。 インストールされていないライブラリータイプの開始ローディング濃度を追加。 %Occupied メトリクスに関する情報を追加。 添加する 1 nM PhiX の体積を 50 μL に増加。 以下に示すイルミナカタログ番号に更新： <ul style="list-style-type: none"> iSeq 100 Spare Drip Tray Pad は 20023927。 iSeq 100 Spare Air Filter は 20023928。 ピペットおよびピペットチップの推奨内容を更新。
文書番号：1000000036024 v00	2018年 2月	初版リリース。



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。
© 2021 Illumina, Inc. All rights reserved.

illumina®

正誤表

ページ番号	章・節	原文	修正内容
p.28	シーケンス シーケンスランの設定 (Local Run Manager)	リードサイクルを変更するには、Read 1 のサイクルについて 26 ~ 151 のサイクルを入力します。 実施したいサイクル数に 1 サイクル加えます。	リードサイクルを変更するには、Read 1 と Read 2 の各サイクルについて 26 ~ 151 のサイクルを入力します。 実施したいサイクル数に 1 サイクル加えます。
p.35	メンテナンス	シーケンスランはローカルハードドライブに約 200 GB のスペースが必要です。	シーケンスランはローカルハードドライブに約 2 GB のスペースが必要です。
p.37	メンテナンス	コンセントから電源コードを抜き、背面パネルの AC 電源アウトレットから電源コードを抜きます。	コンセントから電源コードを抜き、背面パネルの AC 電源インレットから電源コードを抜きます。
p.41	シーケンスの出力	A. フェージングしている塩基があるリード	A. フェージングしている塩基がある DNA 鎖
p.41	シーケンスの出力	B. プレフェージングしている塩基があるリード	B. プレフェージングしている塩基がある DNA 鎖
p.48	トラブルシューティング	再使用可能テスト用フローセルおよび再使用可能テスト用カートリッジは、36 回使用するか、製造日から 5 年間は有効です。	再使用可能テスト用フローセルおよび再使用可能テスト用カートリッジは、130 回使用するか、製造日から 5 年間は有効です。