

illumina®

NovaSeq X Plus

Product Documentation

ILLUMINA PROPRIETARY

文書番号：200027529 v02 JPN

2023年2月

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断目的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き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

安全性とコンプライアンス	1
安全性に関する考慮事項と標示	1
製品コンプライアンスと規制標示	3
システムの概要	6
シーケンスの概要	6
シーケンスワークフロー	8
システムコンポーネント	9
統合ソフトウェア	12
サイトの準備	17
ラボ要件	19
試薬キットの保管要件	21
PCR 手順に対するラボのセットアップ	21
電源要件	22
無停電電源装置	25
環境要件	26
ネットワーク接続	28
消耗品および機器	30
シーケンス消耗品	30
ユーザーが用意する消耗品および機器	35
システム設定	37
ユーザーアカウント	38
クラウドと Proactive サポートの設定	41
プロキシサーバーの設定	42
デフォルト出力フォルダーの場所の指定	43
DRAGEN アプリケーションの管理	44
リソースファイルのインポート	46
カスタムライブラリー調製キットおよびカスタムインデックスアダプターキットのインポート	47
カスタムプライマー	49
カスタムプライマーの調製と添加	49
カスタムプライマーに関するランの設定	51

プロトコール	52
シーケンスランの計画.....	52
消耗品の融解.....	61
ライブラリーの変性および希釈.....	63
Lyo インサートおよびライブラリーチューブストリップのロード.....	65
シーケンスランの開始.....	65
消耗品のロード.....	67
プレランチェック.....	71
ランの進捗状況のモニタリング.....	72
サインインおよびサインアウト.....	73
使用済みの消耗品のリサイクル.....	73
シーケンスの出力	79
Real-Time Analysis.....	79
シーケンス出力ファイル.....	81
NovaSeq X Plus システムの二次解析レポート.....	87
メンテナンス	107
ハードドライブスペースのクリア.....	107
ソフトウェアのアップデート.....	108
エアフィルターの交換.....	108
Preventive Maintenance (PM).....	109
メンテナンスウォッシュの実施.....	109
トラブルシューティング	114
ランの中断終了.....	114
二次解析のリキュー.....	114
装置のシャットダウンまたは再起動.....	115
DRAGEN のセルフテストの実行.....	116
DRAGEN ライセンスのインストール.....	116
監査ログの確認.....	117
リソースおよび参考資料	118
ダークサイクルシーケンス.....	118
改訂履歴.....	120

安全性とコンプライアンス

本セクションには、本シーケンスシステムの設置、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が記載されています。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についての記載も含まれています。本システムで何らかの操作を行う前に、本セクションをお読みください。

本システムの生産国および製造日は、本装置に貼付のラベルに記載されています。

安全性に関する考慮事項と標示

本セクションには、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記載します。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

すべての作業者が、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、作業者または本装置へのリスクを最小限に抑えるため、すべての作業指示に従ってください。

レーザーの安全性に関する警告



NovaSeq X シリーズはクラス 1 レーザー製品で、2 つのクラス 4 レーザーが含まれています。

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。

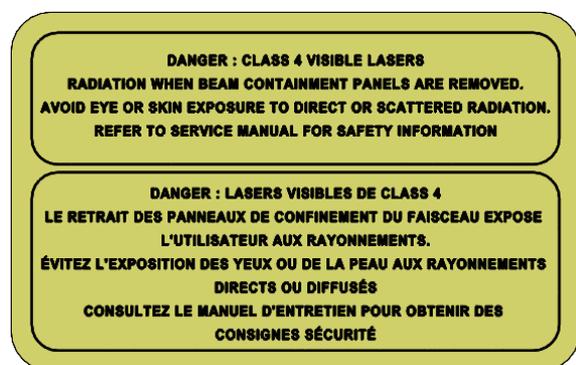
フローセルコンパートメントが開いている場合、またはビームシールドインターロックが取り外されている場合、セーフティーインターロックスイッチにより、レーザー光が遮られます。

図 1 クラス 4 レーザーに関する警告





図 2 イルミナのフィールドサービスエンジニア向けのレーザーに関する警告ラベル



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。電源コードを通して保護地へ接続しています。

本装置を使用するには、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。

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。

フローセルコンパートメント内の温度ステーションに触れないでください。この領域内で使用されているヒーターは通常、室温（22℃）から 60℃の間で制御されています。この範囲の上限温度に曝露すると、火傷を負う恐れがあります。

重い物体の安全性に関する警告



本装置の重量は出荷時におよそ 722 kg (1,591 ポンド)、設置時はおよそ 588 kg (1,296 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。

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。装置内の可動部分には触らないでください。

製品コンプライアンスと規制標示

簡易版適合宣言

Illumina, Inc. は NovaSeq X シリーズが次に示す指令に準拠することを宣言します。

- EMC 指令 [2014/30/EU]
- 低電圧指令 [2014/35/EU]
- RED 指令 [2014/53/EU]

Illumina, Inc. は Compute Server が次に示す指令に準拠することを宣言します。

- RoHS 指令 [2011/65/EU] (EU 2015/863 により改正)

EU 適合宣言書の全文については、次のインターネットアドレスにアクセスしてください。

jp.support.illumina.com/certificates.html

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詳しくは、jp.support.illumina.com/weee-recycling.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 Compliance Guide』 (文書番号: 1000000002699) を参照してください。

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。

規制とコンプライアンスに関するステートメント

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あることがあります。

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 制限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。

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) 전자파 적합기기로서 판매자 또는 사용자는 이 점을 주의하시기 바라며, 가정 외의 지역에서 사용하는 것을 목적으로 합니다.

タイコンプライアンス

本電気通信機器は、NTC/NBTC 技術要件に準拠しています。

ナイジェリアコンプライアンス

本通信機器の接続と使用は、ナイジェリア通信委員会によって許可されています。

台湾での NCC コンプライアンス

低功率電波輻射性電機管理辦法 第十二條經型式認證合格之低功率射頻電機，非經許可，公司、商號或使用者均不得擅自變更頻率、加大功率或變更原設計之特性及功能。第十四條低功率射頻電機之使用不得影響飛航安全及干擾合法通信；經發現有干擾現象時，應立即停用，並改善至無干擾時方得繼續使用。前項合法通信，指依電信法規定作業之無線電通信。低功率射頻電機須忍受合法通信或工業、科學及醫療用電波輻射性電機設備之干擾。

日本コンプライアンス

型式指定を取得した高周波利用設備が内蔵されています。

システムの概要

本セクションでは、ハードウェア、ソフトウェア、データ解析、およびラン管理についての情報など、NovaSeq™ X Plus システムの概要について説明します。仕様、データシート、アプリケーション、および関連製品の詳細については、[NovaSeq X シリーズのサポートサイトページ](#)を参照してください。

特徴

- **ハイスループットかつ高精度**
 - ハイスループットの次世代シーケンサー（NGS）を使用して、スケールに準じたゲノムに関する重要な洞察を提供します。
 - Illumina SBS ケミストリーをアップデートした XLEAP-SBS ケミストリーを使用します。
 - Illumina DRAGEN Bio-IT Platform によるデータ解析パイプラインを使用して、NGS データの包括的で効率的な解析を実現します。
- **生産性**
 - ランあたりの最大ペアエンドリード数は 1,040 億ですが、複数のフローセル構成により、～ 165 Gb から 16 Tb までのシーケンスデータを実現します。シーケンスワークフローのニーズに応じ、データ取量を調整可能です。
 - 装置上、またはクラウドベースの統合されたデータ解析ワークフロー、さらにロスレスデータ圧縮を Illumina DRAGEN Bio-IT Platform によって提供します。
- **サステナビリティ**
 - 凍結乾燥された試薬を用いることで、常温（保冷剤やドライアイスなし）で出荷します。これにより、カートリッジの体積、パッケージの重量、および使用する梱包材の量を削減しています。
 - リサイクル可能なプラスチックや、植物ベースの生体高分子で作られたバッファークートリッジを使用することで、装置のプラスチック質量を削減しています。

シーケンスの概要

以下の情報は、NovaSeq X シリーズのシーケンスワークフローに関するその他の詳細です。

クラスター形成

クラスター形成中、単一 DNA 分子がフローセル¹の表面に結合と同時に増幅されてクラスターを形成します。

¹ 物理的にレーン分けされたガラススライド。各レーンは、アダプターシーケンスに相補的なオリゴでコーティングされており、シーケンスランのために、ライブラリーを付着させることができます。

シーケンス

緑チャンネルと青チャンネルの2色チャンネルケミストリーを使ってクラスターをイメージングし、4つのヌクレオチドの情報をエンコードします。フローセル上の1つのタイルをイメージングしてから、次のタイルをイメージングします。このプロセスがシーケンスのサイクルごとに繰り返されます（サイクルあたり～5分間）。

一次解析

続くイメージ解析では、Real-Time Analysis (RTA4) ソフトウェアがベースコーリング¹、フィルタリング、およびクオリティスコアリング²を行います。データ解析に備え、ラン実行中に、NovaSeq X Series Control Software が、ベースコールファイル³ (*CBCL) を指定の出力場所に自動的に転送します。NovaSeq X Series Control Software、Sequencing Analysis Viewer (SAV)、または BaseSpace Sequence Hub を使用して、RTA4 によって生成された品質メトリクスをリアルタイムに確認できます。

シーケンスが完了すると、二次解析が開始されます。二次データ解析の方法は、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。

二次解析

BaseSpace Sequence Hub と Illumina Connected Analytics (ICA) は、データの解析と保存、ランのモニタリングのためのイルミナのクラウドコンピューティング環境です。ランのモニタリングは BaseSpace Sequence Hub でのみ表示できます。BaseSpace Sequence Hub は、DRAGEN および BaseSpace Sequence Hub アプリをホストすることで、シーケンスの一般的な解析方法をサポートします。Illumina Connected Analytics は、ICA パイプライン用の DRAGEN をホストします。事前構築済みの ICA パイプラインを使用できるほか、自身のシーケンスデータおよび解析データを用いるためのカスタムパイプラインも作成できます。

クラウドでシーケンスデータを解析する場合、CBCL データはクラウドに自動的にアップロードされ、BaseSpace Sequence Hub または ICA でそのデータを使用できます。データのアップロードが完了すると、解析が自動的に開始されます。

シーケンスデータをローカルで解析する場合、DRAGEN による二次解析が装置上で実行され、選択した出力フォルダーに出力ファイルが保存されます。

- BaseSpace Sequence Hub の詳細については、[BaseSpace Sequence Hub サポートページ](#)を参照してください。
- Illumina DRAGEN Bio-IT Platform の詳細については、[DRAGEN Bio-IT Platform サポートページ](#)を参照してください。
- Illumina Connected Analytics の詳細については、[Illumina Connected Analytics サポートページ](#)を参照してください。
- すべてのアプリの概要については、[BaseSpace Sequence Hub のアプリのページ](#)を参照してください。

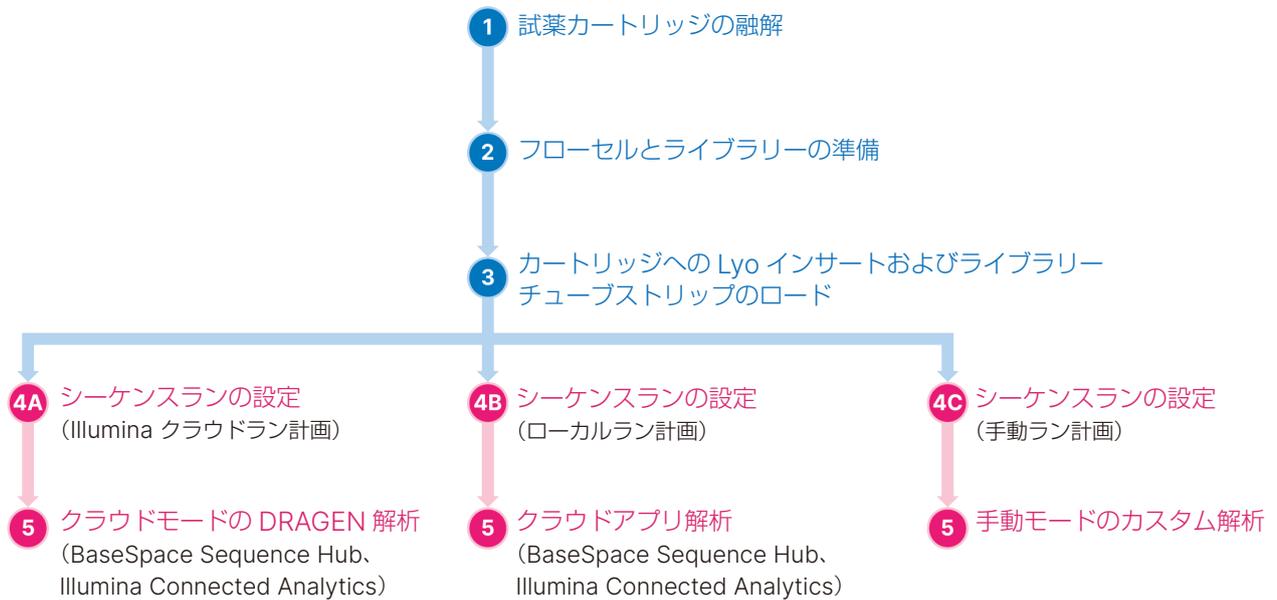
¹ 特定のサイクルにおけるタイル上のすべてのクラスターに対し、塩基 (A、C、G または T) を決定します。

² ベースコールごとに一連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。

³ 各シーケンスサイクルの各クラスターのベースコールおよびそのクオリティスコアを保持します。

シーケンスワークフロー

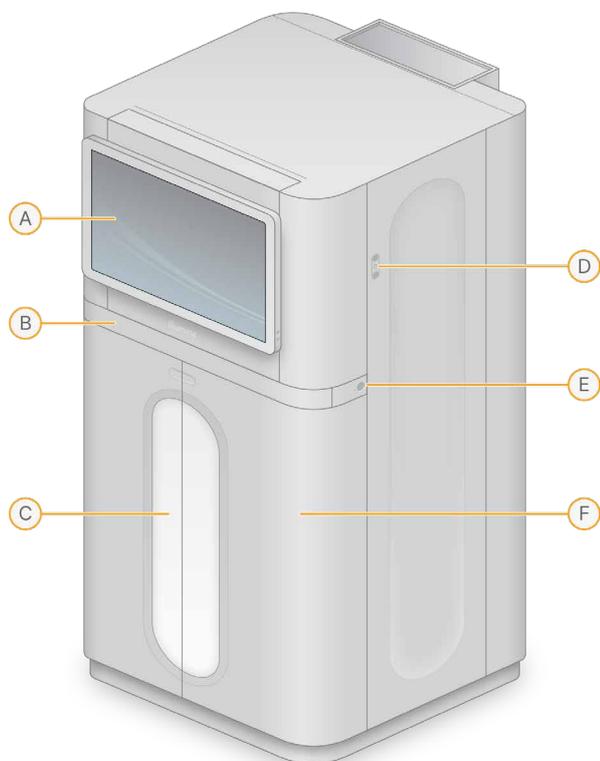
以下の図は、NovaSeq X Plus システムを使用したシーケンスプロトコルを示しています。



システムコンポーネント

NovaSeq X Plus システムは、タッチスクリーンモニター、ステータスバー、電源ボタンとその近傍の USB ポート、および消耗品コンパートメントで構成されています。

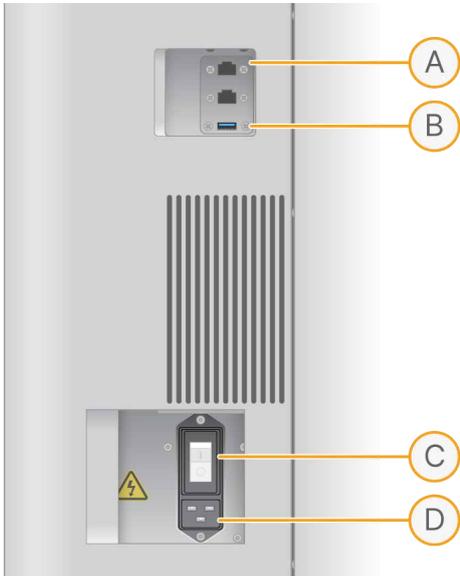
外部コンポーネント



- A. **タッチスクリーンモニター**：NovaSeq X Series Control Software のインターフェースを使用して、システムの設定およびセットアップができます。タッチスクリーンモニターの側面にあるボタンを使用して、モニターの高さを調整できます。
- B. **キーボードおよびトラックパッドトレイ**：キーボードおよびトラックパッドの格納式トレイです。トレイを押すと開きます。
- C. **ステータスバー**：ライトの色で、システムのワークフローの進行状況を示します。青色は消耗品をロードしていることを示し、青色と紫色はプレランチェック、マルチカラーはシーケンス中を示します。赤色の連続点灯は重大なエラーを示します。赤色と白色はその他のエラーを示します。
- D. **USB 3.0 ポート (3)**：周辺機器を接続するための USB 接続ポートがあります。
- E. **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。
- F. **液体コンパートメント**：試薬カートリッジ、バッファーカートリッジ、および廃液ボトルが収容されています。

電源と補助装置の接続

装置の背面にはイーサネット接続用の 2 つのイーサネットポート、装置の電源を制御するスイッチとインレットがあります。USB 2.0 ポートは、UPS を接続するために使用します。



- A. **イーサネットポート (2)**：イーサネットケーブルを接続します。
- B. **USB 2.0 ポート**：UPS を USB 接続します。
- C. **トグルスイッチ**：装置のオンとオフを切り替えます。
- D. **電源インレット**：電源コードの接続用です。

フローセルコンパートメント

フローセルコンパートメントにはフローセルステージがあり、左側にフローセル A、右側にフローセル B を保持します。コンパートメントは装置モニターの裏側にあります。フローセルをロードする際、Control Software がモニターを自動的に上昇させます。

フローセルステージに搭載された光学アライメントターゲットは、光学的な問題を診断、修正します。Control Software から指示された場合、光学アライメントターゲットは、シーケンス結果を向上させるためにシステムの再調整やカメラのフォーカス調節を行います。

フローセルコンパートメントのドアの開閉は、Control Software によって制御されます。フローセルをロードするために、ドアが自動的に開きます。ローディング後、コンパートメントドアは自動的に閉じ、フローセルが所定の位置に移動して、バキュームによる固定が行われ、クランプが閉じます。センサーにより、フローセルの存在と適合性が確認されます。

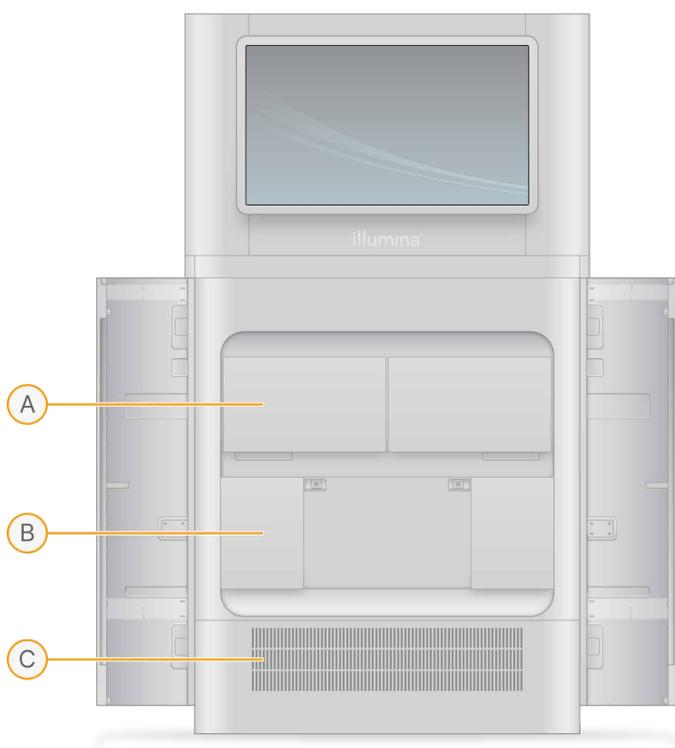
液体コンパートメント

ランを開始するには、液体コンパートメントを開いて試薬とバッファーをロードし、廃液ボトルを空にする必要があります。液体コンパートメントには 2 つのドアがあり、内部は A 側と B 側に分かれています。

エアフィルターは、装置前面下部の引き出しにあるファンを覆っています。エアフィルターが詰まるのを避けるために、装置の前に障害物を置かず、フロアを清潔に保ってください。配置の詳細については、[17 ページの「サイトの準備」](#)を参照してください。

引き出しの内部にはライトがあり、使用済みのカートリッジやボトルを取り除く際に点灯します。引き出しを閉じるとライトが消灯します。

ランまたはメンテナンスウォッシュのセットアップ中にシーケンス消耗品または洗浄消耗品をロードする際、装置ドアのロックが自動的に解除されます。装置がシーケンス中でない場合は、装置ドアのロックを手動で解除して、エアフィルターの交換や、廃液ボトルを空にしたりできます。



- A. **試薬引き出し**：試薬カートリッジとバッファーカートリッジを保持します。
- B. **廃液引き出し**：廃液ボトル（大）および廃液ボトル（小）を保持します。
- C. **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します。

使用済み試薬

フルイデックスシステムは、有害な可能性のある試薬カートリッジの試薬を廃液ボトル（小）に送液するよう設計されています。バッファーカートリッジからの試薬は廃液ボトル（大）に送液されます。ただし、使用済み試薬の流れの間でクロスコンタミネーションが生じる恐れがあります。安全のため、どちらの廃液ボトルにも有害な可能性のある化学物質が含まれているものとみなしてください。詳細なケミストリー情報は安全データシート（SDS）に記載されています。

統合ソフトウェア

システムソフトウェアパッケージは、シーケンスランおよび解析を実行する統合アプリケーション群で構成されています。

- **NovaSeq X Series 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モニタリング、DRAGEN データの表示に対するインターフェースを提供します。装置上、またはローカルネットワークに接続されたコンピューターから Control Software にアクセスできます。
- **Real-Time Analysis (RTA4)** : 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、[79 ページの「Real-Time Analysis」](#) を参照してください。
- **Universal Copy Service (UCS)** : ラン全体を通して、出力ファイルを出力フォルダーにコピーします。該当する場合は、BaseSpace Sequence Hub または Illumina Connected Analytics (ICA) にもデータを転送します。
- **Illumina DRAGEN Bio-IT Platform** : アプリケーションの選択メニューに応じて、ハードウェアで高速化された二次解析を実行します。

NovaSeq X Series Control Software は対話型で、自動化されたバックグラウンド処理を実行します。RTA4 および UCS は、バックグラウンド処理としてのみ実行されます。

システム情報

NovaSeq X Series Control Software では、装置アイコンを選択することでグローバルナビゲーションメニューが開きます。[Settings] アイコンを選択してから [About] を選択すると、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できます。

- NovaSeq X Series Control Software のバージョン
- コンピューター名
- OS イメージバージョン
- 装置のシリアルナンバー
- ランの総数

通知およびアラート

装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開いてから、[Notifications] を開くと、すべてのシステム通知を確認できます。[Notifications] 画面には、2 つのタブ [Notifications] と [Error and warning history] が含まれています。[Error and warning history] タブを選択すると、現在や過去の通知、エラー、および警告のリストが表示されます。[Notifications] タブを選択すると、現在の通知のリストが表示されます。

操作中にエラーまたは警告が発生した場合、NovaSeq X Series Control Software にアラートが表示されます。

- 重大なシステムエラーが発生した場合は、直ちに装置をシャットダウンして、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。
- その他のシステムエラーが発生した場合、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。エラーの内容に応じて、NovaSeq X Series Control Software に、エラーを解決するための適切な対処方法が表示されます。
- 警告 [Warning] が発生しても、ランを開始または続行するために何らかの対処を行う必要はありません。警告が発生した場合、NovaSeq X Series Control Software に、警告を解決するための適切な対処方法が表示されます。
- 通知 [Notification] は、現在の操作に関係のないイベントに関する情報を提供します。現在の通知数がグローバルナビゲーションメニューの [Notifications] アイコンに表示されます。[Notifications] タブで通知を消去したり、通知を解決したりできます。

Control Software の最小化と終了

その他のアプリケーションにアクセスするには、Control Software を最小化または終了します。例えば、装置上の他のアプリケーションにアクセスして、Control Software 以外の操作（ファイルエクスプローラーでサンプルシートを確認するなど）を実行できます。

1. NovaSeq X Series Control Software で、装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから、[Minimize software] を選択して Control Software を最小化するか、[Exit software] を選択して Control Software を閉じます。
Control Software を終了した場合、再度開くには、サインインし直す必要があります。
3. Control Software を最大化する、または開くには、ツールバーから [NovaSeq X Series Control Software] を選択します。

リモートの NovaSeq X Series Control Software の使用

シーケンスシステムで使用しているものと同じローカルネットワークに接続されたコンピューターを使用して、装置外から NovaSeq X Series Control Software にアクセスできます。

リモートの NovaSeq X Series Control Software へのアクセス

Control Software にリモートでアクセスするには、イルミナの担当者から提供される IP アドレスとホスト名の情報を使用します。使用できるブラウザは、Chrome/Chromium、Edge、Firefox、および Safari です。

Mac または Linux オペレーティングシステムを使用しているコンピューターの場合、NovaSeq X Series Control Software にリモートでアクセスするには、ルート証明書をインストールする必要があります。ルート証明書はイルミナの担当者が提供します。ルート証明書をインストールするには、それぞれのオペレーティングシステムの製造元から提供されている文書を参照してください。

リモートの NovaSeq X Series Control Software の操作

ローカルネットワークに接続されたコンピューターから NovaSeq X Series Control Software にサインインすると、[Runs] 画面が自動的に開きます。

その他の機能にアクセスするには、左上隅にある [Menu] ドロップダウンを開きます。任意の画面で [Exit] を選択すると、[Runs] 画面に戻ることができます。

以下の機能を使用できます。各ユーザーグループが持つ権限の詳細については、[38 ページの「ユーザーアカウント」](#)を参照してください。

- [Runs] : 次のいずれかの操作を実行できます。
 - 新しいシーケンスランを計画します。詳細については、[52 ページの「ローカルのシーケンスランの計画」](#)を参照してください。
 - 進行中のランの進捗状況をモニタリングします。詳細については、[72 ページの「ランの進捗状況のモニタリング」](#)を参照してください。
 - ローカルで計画したランを編集または削除します。詳細については、[15 ページの「ラン管理」](#)を参照してください。
- [Users] : ユーザーを追加および管理できます。詳細については、[38 ページの「ユーザーアカウント」](#)を参照してください。
- [Password policy] : パスワード設定を表示および編集できます。詳細については、[41 ページの「パスワード設定の編集」](#)を参照してください。
- [Applications] : DRAGEN アプリケーションを表示および管理できます。詳細については、[44 ページの「DRAGEN アプリケーションの管理」](#)を参照してください。
- [Resources] : ゲノムおよびリファレンスファイルをインポートおよび管理できます。詳細については、[46 ページの「リソースファイルのインポート」](#)を参照してください。
- [DRAGEN] : DRAGEN のライセンスの更新や DRAGEN のセルフテストを実行できます。詳細については、[116 ページの「DRAGEN ライセンスのインストール」](#) および [116 ページの「DRAGEN のセルフテストの実行」](#)を参照してください。
- [Custom kits] : カスタムインデックスアダプターキットとカスタムライブラリー調製キットの追加と管理を実行できます。詳細については、[47 ページの「カスタムライブラリー調製キットおよびカスタムインデックスアダプターキットのインポート」](#)を参照してください。
- [Audit log] : 監査ログを確認できます。詳細については、[117 ページの「監査ログの確認」](#)を参照してください。
- [Cloud settings] : クラウド設定と外部ストレージオプションを構成できます。詳細については、[41 ページの「クラウドと Proactive サポートの設定」](#) および [43 ページの「デフォルト出力フォルダーの場所の指定」](#)を参照してください。
- [About] : イルミナ問い合わせ情報およびシステム情報を表示できます。[12 ページの「システム情報」](#)を参照してください。

ラン管理

[Runs] 画面には、計画されたラン、進行中のラン、および完了したランのリストが表示されます。各ランはラン名で識別されます。ラン名、ライブラリーチューブストリップ ID、および最初にランに追加された DRAGEN アプリケーションを使用してランを検索できます。すべてのランで消費された装置のデータストレージ容量と利用可能なストレージ容量を確認することもできます。ランを削除する方法の詳細については、[107 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。

リモートでの Control Software から、ランのサンプルシートをエクスポートできます。ラン名を選択してから、[Sample Sheet] を選択します。サンプルシートを保存するには、[Save as] を選択します。

計画されたラン

[Planned] タブには、ローカルまたはクラウドで計画されたランが表示されます。NovaSeq X Plus システム装置またはネットワーク接続されたコンピューターを使用して、ローカルでランを計画できます。クラウドでランを計画するには、BaseSpace Sequence Hub を使用します。

[Planned] タブでは、ローカルで計画したランを編集または削除できます。計画したランの変更は、[Planned] タブ上でランを選択します。計画したランを削除するには、[Actions] 列で [...] アイコンを選択します。

[Planned] タブには、以下の情報が表示されます。

- [Status] : シーケンスランのステータス。計画されたランは、次のいずれかのステータスを取ります。
 - [Planned] : シーケンスのために選択可能。
 - [Draft] : シーケンスのために選択不可。
 - [Needs attention] : エラーにより、使用不可（クラウド接続が中断されているなど）。[Run details] 画面でエラーを確認できます。
- [Run name] : ランの名前。
- [Application] : ランに関連付けられている DRAGEN の二次解析アプリケーション。アプリケーションをインストールする方法の詳細については、[44 ページの「DRAGEN アプリケーションの管理」](#)を参照してください。
- [Last modified] : ランを最後に編集した日時。

アクティブなラン

[Active] タブには、計画されたランと手動で作成されたランを含む、進行中のランがすべて表示されます。[Active] タブには、シーケンス開始日、装置の側（A または B）、シーケンスのステータス、Q スコアが 30 以上の割合、収量、総 PF リード数のメトリクスが含まれます。

[Active] タブでは、ストレージへのデータアップロードや二次解析をキャンセルできます。詳細については、[114 ページの「ランの中断終了」](#)を参照してください。[Active] タブでは、シーケンス中のランをキャンセルできません。

ラン名を選択して [Run details] ページに移動すると、ランの詳細を確認できます。ランの隣にあるドロップダウンを選択すると、シーケンスのステータスや関連付けられている DRAGEN アプリケーションの詳細を確認できます。

ランメトリクスとランステータスの詳細については、[72 ページの「ランの進捗状況のモニタリング」](#)を参照してください。

完了したラン

[Completed] タブには、シーケンスと解析が完了したラン、キャンセルされたラン、シーケンスまたは解析に失敗したランが表示されます。シーケンスおよび解析の出力データの場所、シーケンスメトリクス、およびランによって消費された装置のデータストレージ容量を確認できます。ランに関連付けられている DRAGEN アプリケーション、計画されたランが作成された場所、Q スコアが 30 以上の平均割合、およびデータ出力量も確認できます。シーケンスデータが装置から転送削除されると、該当するデータ出力量のメトリクスが表示されなくなります。

詳細なシーケンスメトリクスや二次解析メトリクスなど、ランのその他の結果を表示するには、ランを選択します。

ランを削除するには、[Action] 列で [...] アイコンを選択します。ランまたはランデータのみを削除できます。ランデータを削除した場合、そのランによって生成されたシーケンスおよび解析に関するフォルダーは削除されますが、基本的なランの詳細は保持され、ランは [Completed] タブから削除されません。ランを削除すると、そのランが完全に削除されます。

サイトの準備

本セクションでは、NovaSeq X シリーズ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について説明します。

配送と設置

イルミナの担当者が、システムの配送、構成品の開梱を行い、装置を設置します。配送前に、ラボスペースの準備をしてください。

開梱した装置は、出入り口やエレベーターに 87 cm（34 インチ）以上のスペースを必要とします。出入り口やエレベーターのスペースが 87 cm 未満の場合は、イルミナの担当者にご連絡ください。

設備管理者が装置の設置に関連するフロアへの荷重リスクを評価し、対処する必要があります。

! | 本装置の開梱、設置、移動は、イルミナから許可を受けた作業者のみが行ってください。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を確定している必要があります。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。

! | 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、イルミナの担当者へお問い合わせください。

木枠梱包の寸法と内容

シーケンスシステムと構成品は 2 つの木枠梱包で出荷されます。以下の寸法表を参照して、出荷用木枠を運び入れるために必要な最低限のドア幅を確認してください。

i | 木枠番号 1 では、フォークリフトのアクセスポイントは木枠の下側にあります。木枠梱包に入った装置を運び込む際に必要な出入り口とエレベーターのスペースを必ず確認してください。

表 1 木枠梱包の寸法

測定	木枠番号 1	木枠番号 2
高さ	175.90 cm (69.25 インチ)	121.92 cm (48 インチ)
幅	109.22 cm (43 インチ)	91.44 cm (36 インチ)
奥行き	154.76 cm (60.93 インチ)	101.6 cm (40 インチ)
重量	722 kg (1,591 ポンド)	238 kg (525 ポンド)

各梱包には、次のものが含まれています。

木枠番号 1 には装置が入っています。

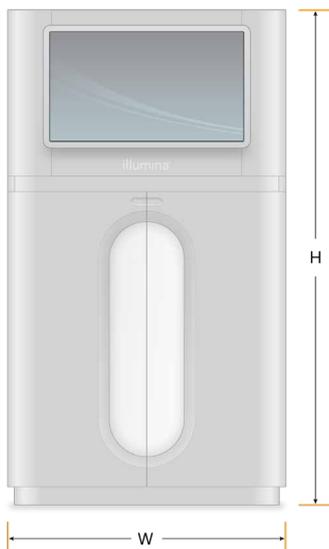
木枠番号 2 には箱が 5 つ入っており、次のものが同梱されています。

- 箱：無停電電源装置 (UPS)、重量 46 kg (100 ポンド)
- 箱：キット付属品同封物、重量 12 kg (26 ポンド)
- 箱：電源およびディスプレイ付属品、重量 13 kg (30 ポンド) :
 - モニター
 - モニターケーブルキャリア
 - イーサネットケーブル
 - 地域仕様の電源コード
 - キーボード
- 箱：付属品、重量 10 kg (22 ポンド) :
 - チムニーアダプター
 - 交換用エアフィルター (4)
 - チューブキットアセンブリー
 - 洗浄用試薬カートリッジ
 - 洗浄フローセル
 - クーラント液 (3)
 - 廃液用キャップ (4)
 - ライブラリーチューブストリップアダプター (3)
 - 外部廃液チューブ
 - ウェブスリング
 - カラビナクリップ

ラボ要件

本セクションに示す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	158.8 cm (62.5 インチ)
幅	86.4 cm (34 インチ)
奥行き	93.3 cm (36.7 インチ)
重量	588 kg (1,296 ポンド) *

* UPS と消耗品を含む、設置後の装置総重量。

設置要件

装置は、適正な換気ができ、電源スイッチ、電源コンセントおよび電源コードにアクセスができ、装置のサービス時にアクセスができるよう設置します。

- 担当者が装置の右側から回り込んで電源スイッチのオン / オフができるように装置を設置してください。電源スイッチは背面の電源コード付近に付いています。
- 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。
- すべての側面から装置にアクセスできるようにするため、次の表に示す「装置周辺に必要なスペース」が確保されていることを確認してください。
- エアフィルターが詰まるのを避けるために、装置の前に障害物を置かず、フロアを清潔に保ってください。
- UPS は装置のいずれかの側面近くに設置してください。UPS は装置周辺に必要なスペースの範囲内に配置できます。

アクセス	必要なスペース
前面	前面ドアを開けられるように、また、ラボ関係者が一般的なラボの移動を行えるように、装置の前面には少なくとも 152.4 cm (60 インチ) のスペースが必要です。
側面	アクセスおよび必要なスペースを確保するため、装置の各側面に少なくとも 70 cm (27.5 インチ) のスペースが必要です。装置を横に並べる場合でも、両装置間に必要なスペースは 70 cm (27.5 インチ) です。
背面	換気およびアクセスのため、装置の背面から壁までは少なくとも 30.5 cm (12 インチ) のスペースが必要です。2 台の装置を背中合わせに設置する場合は、装置間には少なくとも 61 cm (24 インチ) のスペースが必要です。
上面	棚やその他の障害物が装置の上がないことを確認します。

! | 正しく設置しないと、換気が不十分になる可能性があります。換気が不十分の場合、熱出力や騒音出力が増加し、データの整合性や担当者の安全性が損なわれることがあります。

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 また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。

- 装置は水平で硬いフロアに配置し、設置エリアに余計なものを置かないでください。
- 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。
- 装置は、ISO Operating Room 標準を超える振動源の近くに設置しないでください。以下に例を示します。
 - ラボ内のモーター、ポンプ、冷凍庫、遠心機、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
 - 多くの人が行き交う場所
- 落下物や重機の移動などの振動源は、本装置から少なくとも 100 cm (39.4 インチ) 遠ざけてください。
- 本装置の操作にはタッチスクリーン、キーボード、およびトラックパッド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。

試薬キットの保管要件

以下の仕様を用いて保管要件を決定してください。

試薬は常温で配送されます。

保管温度および寸法

シングルフローセルランには、以下のアイテムがそれぞれ1個ずつ必要です。デュアルフローセルランには、各アイテムが2個ずつ必要です。キットが納品されたら、適切な性能を保証するために、構成部品を指定の温度で直ちに保管してください。

アイテム	保管温度	寸法
試薬カートリッジ	-25°C ~ -15°C	9.8 cm x 23.7 cm x 31.2 cm (3.9 インチ x 9.4 インチ x 31.1 インチ)
Lyo インサート*	-25°C ~ -15°C	5.1 cm x 14.3 cm x 19.1 cm (2.0 インチ x 5.6 インチ x 7.5 インチ)
カスタムプライマーバッファー	-25°C ~ -15°C	12.6 cm x 3.8 cm x 4.9 cm (5.0 インチ x 1.5 インチ x 1.9 インチ)
プレロードバッファー	-25°C ~ -15°C	10.1 cm x 3.8 cm x 3.8 cm (4.0 インチ x 1.5 インチ x 1.5 インチ)
フローセル	2°C ~ 8°C	20.0 cm x 2.54 cm x 15.1 cm (7.9 インチ x 1.0 インチ x 5.9 インチ)
バッファークートリッジ	15°C ~ 30°C	14.0 cm x 8.3 cm x 31.3 cm (5.5 インチ x 3.3 インチ x 12.3 インチ)
ライブラリーチューブストリップ	15°C ~ 30°C	4.9 cm x 3.8 cm x 9.5 cm (1.9 インチ x 1.50 インチ x 3.8 インチ)

* 保管する際に Lyo インサートを積み重ねないでください。

感光性

試薬カートリッジ、バッファークートリッジ、および Lyo インサートには、感光性を持つ試薬が含まれています。これらのアイテムは使用するまで包装したままにし、光源のない暗所に保管してください。

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。

プレ PCR エリアおよびポスト PCR エリア

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を使用してください。

- 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される消耗品は、プレ PCR エリア内に保管してください。必要に応じて、消耗品をポスト PCR エリアに移してください。

機器と消耗品の専用化

- 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した消耗品の専用保管場所を設定してください。

電源要件

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。

表 2 電力仕様

タイプ	仕様
線間電圧	50/60 Hz で 200 ~ 240 VAC
最大電力消費	2,700 ワット

コンセント

設備は 15 A 以上の接地極付き電源配線で、適切な電圧で接続されている必要があります。地域によって要件が異なる場合があります。国別の電源要件については、[22 ページの「電源コード」](#)を参照してください。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。

本装置は、他の機器と共有していない専用の電気回路に接続する必要があります。

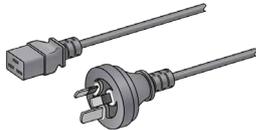
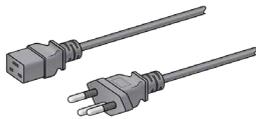
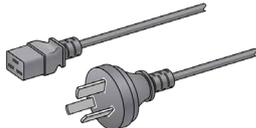
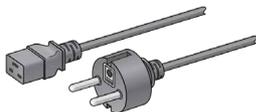
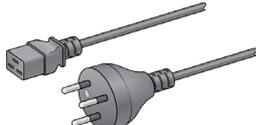
電源コード

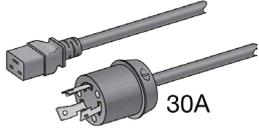
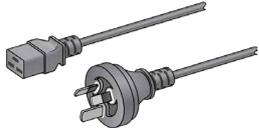
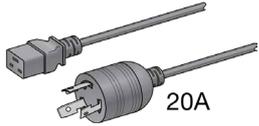
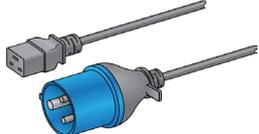
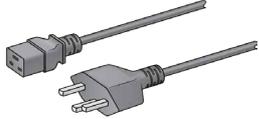
装置には国際規格の IEC 60320 C20 に準拠したコンセントが付属しており、地域仕様の電源コードとともに配送されます。地域規格に準拠した同等のコンセントまたは電源コードを入手するには、Interpower Corporation (www.interpower.com) などの第三者サプライヤーにお問い合わせください。すべての電源コードの長さは 2.5 m (8 フィート) です。

AC 電源からコードを抜いたとき以外は常に高電圧が装置に供給されています。

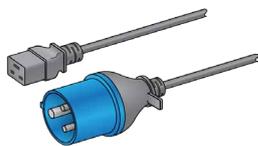
! 装置を電源に接続するために延長コードを絶対に使用しないでください。

表 3 主要な地域での電源コード要件

地域	配送される電源コード	電源	コンセント
オーストラリア	両端がそれぞれ AS 3112 SAA (オス) と C19、15 A 	線間電圧： 230 VAC 最小電流： 15 A	15 A タイプ I
ブラジル	両端がそれぞれ NBR14136 プラグと C19、16 A 	線間電圧： 220 VAC 最小電流： 16 A	NBR 14136 タイプ N
中国	両端がそれぞれ GB2099 と C19、16 A 	線間電圧： 220 VAC 最小電流： 16 A	GB 1002、 GB 2099、 タイプ I
EU ¹	両端がそれぞれ Schuko CEE 7 (EU1-16p) と C19、16 A 	線間電圧： 220 ~ 240 VAC 最小電流： 16 A	Schuko CEE 7/3
インド	両端がそれぞれ IS1293 と C19、16 A 	線間電圧： 230 VAC 最小電流： 16 A	BS546A タイプ M
イスラエル	IEC 60320 C19、16 A 	線間電圧： 230 VAC 最小電流： 16 A	SI 3216 A タイプ H

地域	配送される電源コード	電源	コンセント
日本	NEMA L6-30P、30 A 	線間電圧： 200 VAC 最小電流： 30 A	NEMA L6-30R
ニュージーランド	両端がそれぞれ AS 3112 SAA (オス) と C19、15 A 	線間電圧： 230 VAC 最小電流： 15 A	専用 15 A、 タイプ I
北米	両端がそれぞれ NEMA L6-20P と C19、 20 A 	線間電圧： 220 VAC 未満 最小電流： 20 A 線間電圧： 220 VAC 以上 最小電流： 16 A	NEMA L6-20R
シンガポール	両端がそれぞれ IEC60309 316P6 と C19、 16 A 	線間電圧： 230 ~ 250 VAC 最小電流： 16 A	IEC60309 316C6
南アフリカ	両端がそれぞれ SANS 164-1 と C19、16 A 	線間電圧： 230 VAC 最小電流： 16 A	BS546A タイプ M
スイス	SEV 1011 タイプ 23 プラグ J、16 A 	線間電圧： 230 VAC 最小電流： 16 A	SEV 1011 タイプ 23 J ソケット

地域	配送される電源コード	電源	コンセント
英国	両端がそれぞれ IEC60309 316P6 と C19、 16 A	線間電圧： 240 VAC 最小電流： 16 A	IEC60309 316C6



¹ スイスと英国を除く。

i | どの地域でも、上記の代わりに IEC 60309 を使用することができます。

無停電電源装置

以下の仕様は、装置に同梱される世界標準の UPS に適用されます。

別のモデルの UPS とバッテリー、および代替品が必要な国については、[26 ページ](#)の「[国別の無停電電源装置](#)」を参照してください。

- UPS : APC Smart-UPS X 3000 Rack/Tower LCD 200-240V、モデル番号 : SMX3000RMHV2U

仕様	UPS
最大出力電力	2,700 W*/ 3,000 VA
入力電圧 (公称)	200 ~ 240 VAC
入力周波数	50/60 Hz
入力接続	IEC-60320 C20
標準ランタイム (平均電力 2,200 W)	9 分
標準ランタイム (ピーク電力 2,700 W)	6 分
発熱量	184 BTU/h
重量	37.3 kg (82 ポンド)
寸法 (縦型：高さ × 幅 × 奥行き)	43.2 cm × 66.7 cm × 17 cm (17 インチ × 26.26 インチ × 6.7 インチ)

* UPS は、バッテリーの充電や他の内部機能の実行に最大 245 ワットを必要とします。その間は、2,700 ワットの出力が可能です。

国別の無停電電源装置

イルミナが提供する国別の UPS は次のとおりです。

国	UPS モデル番号
コロンビア	SRT3000RMXLW-IEC
インド	UPS モデル番号：SUA3000UXI バッテリーモデル番号：SUA48XLBP
日本	SRT5KXLJ
メキシコ	SRT3000RMXLW-IEC
韓国	SRT3000RMXLW-IEC
タイ	SRT3000RMXLW-IEC

仕様の詳細は、APC のウェブサイト (www.apc.com) を参照してください。

i | 上記の UPS とバッテリーのモデルは在庫に限りがあり、予告なしに変更される場合があります。

環境要件

表 4 装置の環境仕様

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。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。本装置をこの温度範囲外で操作すると、性能が損なわれるか、ランが失敗する可能性があります。
湿度 *	結露を防ぐため 20 ~ 80% の相対湿度を維持してください。
高度	本装置は高度 2,000 m (6,500 フィート) 未満の場所に設置してください。
空気質	本装置は、ISO 9 に準拠した空気中の粒子の清浄度の室内環境 (通常の室内)、あるいはそれよりも良好な環境で操作してください。装置を粉塵源に近づけないでください。
振動	ラボのフロアの連続的な振動を、ISO Operating Room レベル (ベースライン)、またはそれよりも良好なレベルに制限してください。シーケンスランの実行中は、装置の近くのフロアへの断続的な変動や衝撃を制限してください。ISO Operating Room レベルを超えないでください。

* 温度と湿度がともに高い状態にならないようにしてください (温度が 30°C かつ相対湿度が 80% など)。

表 5 騒音出力

騒音出力	装置からの距離
< 75 dB	1 m (3.3 フィート)

表 6 熱出力

電力消費	発熱量
最大：2,700 ワット	最大：9,200 BTU/h*
平均：2,200 ワット	平均：7,507 BTU/h

* UPS からの発熱量を除く。

換気

約 23 cm の縦型円形チムニーを経由して、装置の熱出力の 80% を放出させることができます。部屋に放出することも、ユーザーで用意するダクトにチムニーを接続することもできます。

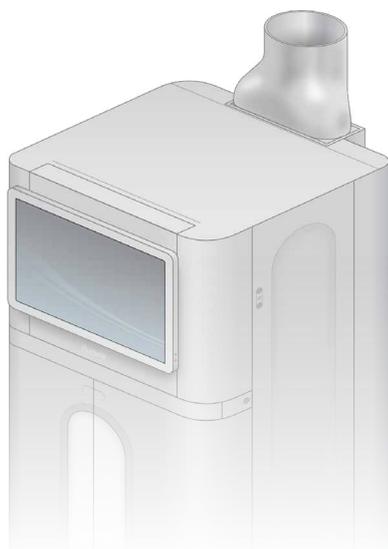
換気ダクトについては以下のガイドラインに従ってください。

- フレキシブルダクトが推奨されます。
- できるだけフレキシブルダクトを曲げないようにしてください。フレキシブルダクトの曲げは最小限に抑えてください。
- フレキシブルダクトを曲げた場合は、チムニーの直径をすべてのポイントで 23 cm (10 インチ) に維持する必要があります。
- ねじれやその他の制限を除去して気流が流れるようにしてください。
- 硬質ダクトも使用できます。硬質ダクトを使用すると、イルミナの担当者が修理のために装置を移動する必要が生じる場合があります。
- できるだけ長さが最も短いダクトを使用してください。
- 装置への気流の制限や滞留を避けるために、十分な換気を行えるスペースに配管してください。

! これらガイドラインの指示に従わない場合、装置の性能が損なわれ、ランが失敗する可能性があります。

チムニー気流は最大 450 CFM です。チムニーの空気温度は常温より最大で 12°C 高くなります。

図 3 換気用チムニーの設置



使用済み試薬の一括処理

NovaSeq X シリーズシステムは、使用済み試薬バッファを別々に処理したり取り扱ったりできるよう、ユーザーが用意したバルク容器に試薬を排出する機構を備えています。付属品キットに同梱されている使用済み試薬用の外部チューブは長さが 5 メートルあり、装置背面の左側に接続します。

イルミナは、この同梱のチューブを用いて使用済み試薬を外部で収集した場合のみサポートを提供します。各チューブには単一のフローセルポジションからバッファ廃液が流れ込むため、チューブは別々にバルク容器まで配管する必要があります。

容器は装置から 5 メートル以内に設置し、開口部の高さは床から 1,000 mm 以下にする必要があります。

ネットワーク接続

イルミナのシステムは、シーケンス実行中に定期的にデータを転送するよう設計されています。シーケンスの完了後、転送速度に応じて、このデータ転送がしばらく続く場合があります。イルミナの装置は、ほぼ安定的に稼働しているネットワークを想定しています。ネットワーク障害はデータ転送に影響を与える可能性があります。ネットワーク障害が発生した場合、ローカルにすべてのデータをキャッシュするように装置は設計されていますが、装置のストレージ空き容量によっては、このようなキャッシュが原因で、次のシーケンスランの開始が遅延する可能性があります。装置は、ネットワークが回復するとデータ転送が再開されるように設計されています。

ネットワークのメンテナンス活動を調査し、NovaSeq X シリーズとの互換性にリスクがないかどうか確認してください。

ファイルタイプごとのデータストレージ要件については、[『Illumina Instrument Control Computer Security and Networking』](#) を参照してください。

以下のガイドライン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。

- 装置とデータ管理システム間の接続には、装置に付属の RJ-45 ケーブルを用いて、専用接続を使用してください。この接続は、直接またはネットワークスイッチ経由で行ってください。
 - データ転送時間を維持するために、10 ギガビット (Gb) イントラネット接続（装置からネットワークストレージおよび境界ファイアウォールまで）が必要です。接続速度がこれより遅い場合、装置の可用性が低下したり、データ転送時間が増加したりして、シーケンスランの性能に影響が及ぶ可能性があります。
- マネージドスイッチを推奨します。
- 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やプリンターなどの補助的な機器の台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。
- CAT-6 以上のケーブルを推奨します。ネットワーク接続用に、長さ 3 m (9.8 フィート) のシールドなしネットワークケーブルが装置に付属しています。ケーブルの長さが 50 m (164 フィート) を超える場合、CAT-6A ケーブルを推奨します。

ネットワーク効率が 85 ~ 90% の接続を実現するために、装置 1 台ごとに次の推奨ネットワーク帯域幅を使用してください。一次解析ファイルには、RTA4 および BCL シーケンス出力ファイルが含まれています。二次解析ファイルには、装置上の DRAGEN 出力ファイルが含まれています。

- ローカルにデータを保存する場合、800 Mb/s（一次のみ）または約 3.5 Gb/s（一次および二次）に対応したネットワーク帯域幅。
- 一次解析データをクラウドにアップロードする場合、800 Mb/s のネットワーク帯域幅。
- ランのモニタリングまたは Illumina Proactive サポートのみの場合は、15 Mb/s のネットワーク帯域幅。

NovaSeq X Plus システムは、装置とネットワークストレージの間で 3 Gb/s を超えるネットワーク接続を使用します。1 Gb/s の接続を使用すると、コピーに長い時間がかかったり、後続のシーケンスランの開始が遅延したりする場合があります。

内部接続

接続	値	目的
ホスト	https://127.0.0.1	Kubernetes クライアントライブラリーを介した GDS
ポート	6443	Kubernetes クライアントライブラリーを介した GDS

アウトバウンド接続

接続	値	目的
ポート	80	Off-Instrument control software UI、BaseSpace Sequence Hub、または Illumina Proactive の設定
ポート	443	Off-Instrument control software UI または UCS
ポート	8080	BaseSpace Sequence Hub または Illumina Proactive の設定
URL	lus.edicogenome.com	DRAGEN ライセンスサーバー

インバウンド接続

接続	値	目的
ポート	80	Off-Instrument control software（証明書）
ポート	443	Off-Instrument control software（UI）

消耗品および機器

本セクションでは、試薬キットに含まれるすべての構成成分と保管条件を示します。また、本セクションでは、全工程を完了したり、メンテナンスウォッシュやトラブルシュートの手順を実施するために購入する必要がある補助的な消耗品と機器の詳細も説明します。

シーケンス消耗品

NovaSeq X Series 10B Reagent Kit には、3 つの構成（100 cycles、200 cycles、300 cycles）があり、そのカタログ番号には以下の構成成分が含まれています。各構成成分には、消耗品の正確な追跡と適合性確保のために RFID（無線自動識別）タグが付いています。NovaSeq X Series 10B Reagent Kit は使い捨てのキットで、シーケンスには必須です。

- 試薬カートリッジ
- バッファークートリッジ
- フローセル
- ライブラリーチューブストリップ
- Lyo インサート
- プレロードバッファ
- カスタムプライマーバッファ

キットが納品されたら、各構成成分を目視で点検し、適切な性能を保証するために、構成成分を指定の温度で直ちに保管してください。

すべてのキット構成成分は室温で配送されます。

アイテム	保管温度	寸法
試薬カートリッジ	-25°C ~ -15°C	9.8 cm x 23.7 cm x 31.2 cm (3.9 インチ x 9.4 インチ x 31.1 インチ)
Lyo インサート ¹	-25°C ~ -15°C	5.1 cm x 14.3 cm x 19.1 cm (2.0 インチ x 5.6 インチ x 7.5 インチ)
カスタムプライマーバッファ ²	-25°C ~ -15°C	12.6 cm x 3.8 cm x 4.9 cm (5.0 インチ x 1.5 インチ x 1.9 インチ)
プレロードバッファ ²	-25°C ~ -15°C	10.1 cm x 3.8 cm x 3.8 cm (4.0 インチ x 1.5 インチ x 1.5 インチ)
フローセル	2°C ~ 8°C	20.0 cm x 2.54 cm x 15.1 cm (7.9 インチ x 1.0 インチ x 5.9 インチ)

アイテム	保管温度	寸法
バッファークートリッジ	室温	14.0 cm x 8.3 cm x 31.3 cm (5.5 インチ x 3.3 インチ x 12.3 インチ)
ライブラリーチューブ ストリップ	室温	4.9 cm x 3.8 cm x 9.5 cm (1.9 インチ x 1.50 インチ x 3.8 インチ)

¹ 保管する際に Lyo インサートを重ね置きしないでください。

² プレロードバッファークートリッジとカスタムプライマーバッファークートリッジは、液漏れを防ぐためにパッケージに入れたまま縦にして保管してください。

! | カートリッジを落とさないでください。落下により負傷する可能性があります。試薬がカートリッジから漏れた場合、皮膚がかぶれる場合があります。カートリッジに亀裂がないことを使用前に点検してください。

消耗品の詳細

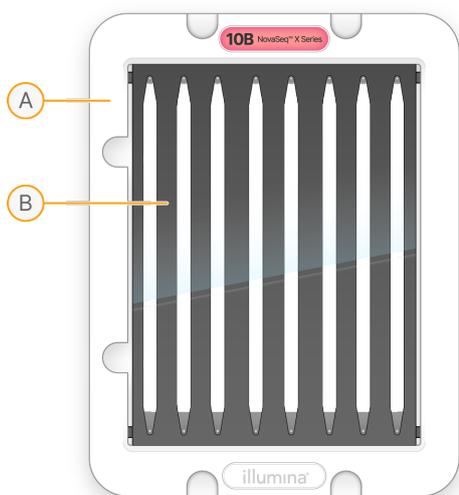
本セクションには、付属の消耗品とライブラリーチューブストリップアダプターに関する追加情報が含まれています。

フローセル

10B フローセルは、プラスチックカートリッジ内に封入されたパターン化フローセルです。このフローセルはガラス基板で、数十億のナノウェルが規則正しく配置されています。これにより、出力リード数が増加し、より多くのシーケンスデータが得られます。各クラスターはこのナノウェル内で形成され、続いてシーケンスが実行されます。

10B フローセルは、プールされたライブラリーをシーケンスするための 8 つのレーンを備えています。各レーンは複数のスワスに分けてイメージングされます。その後、各スワスのイメージがタイルと呼ばれる小さな領域に分割されます。詳細については、[79 ページの「Real-Time Analysis」](#) を参照してください。

フローセル



- A. フローセルカートリッジ
- B. 8 レーンフローセル (10B)

10B フローセルの裏側には、1つの注入用ガスケットと8つの排出用ガスケットが含まれています。ライブラリーと試薬は、フローセルの注入用ガスケットを通過してフローセルレーンに入ります。試薬は、排出用ガスケットを通過してレーンから排出されます。

i | フローセルを扱う際は、ガスケットに触れないでください。

試薬カートリッジ

シーケンス試薬カートリッジには、試薬、バッファー、および洗浄溶液があらかじめ充填されています。

カートリッジには、ランに必要なすべての試薬が含まれています。融解したカートリッジにライブラリーチューブストリップと Lyo インサートをロードした後、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送液されます。持ち運ぶ際は、一度に1つのカートリッジのみを運び、カートリッジの側面をしっかりとつかんでください。

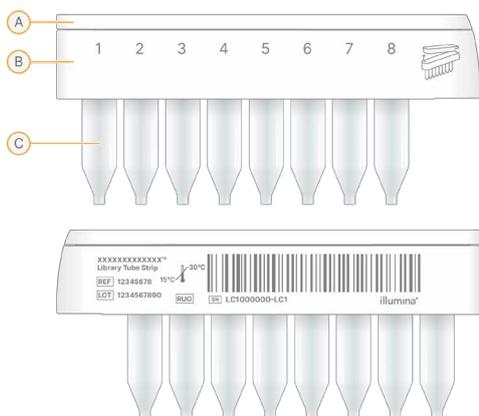
図 4 試薬カートリッジ



ライブラリーチューブストリップ

ライブラリーチューブストリップは、各フローセルレーンに1対1で対応するサンプルチューブを保持します。各サンプルチューブには番号が振られています。ランを計画する際には、サンプルチューブ番号とレーン番号を一致させて入力してください。

図 5 ライブラリーチューブストリップ

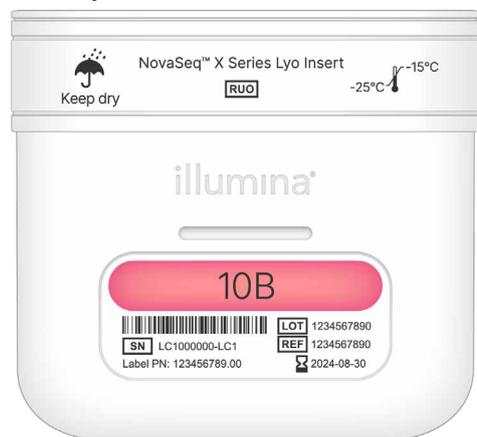


- A. ライブラリーチューブストリップキャップ
- B. フローセルレーン番号
- C. サンプルチューブ

Lyo インサート

Lyo インサートには、SBS 試薬と調製済みの ExAmp 試薬があらかじめ充填されています。シーケンス中に、装置は自動的に ExAmp 試薬を再水和し、ライブラリーチューブで試薬を混合した後、混合液をフローセルに送液します。

図 6 Lyo インサート



バッファークートリッジ

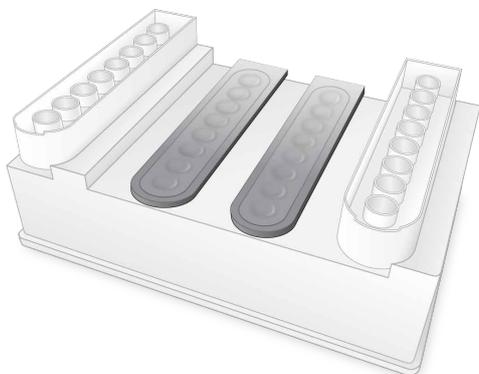
バッファークートリッジには、シーケンスバッファがあらかじめ充填されており、重量は最大 2.5 kg (5.5 ポンド) です。底部にあるくぼみを使ってバッファークートリッジを積み重ねることができます。バッファークートリッジは、装置に直接ロードされます。

図 7 バッファークートリッジ



ライブラリーチューブストリップアダプター

NovaSeq X Plus システムには、ライブラリーチューブストリップの持ち運び、遠心、保管に役立つアダプターが付属します。このアダプターには、ライブラリーチューブストリップサンプルチューブとキャップを挿入する場所があります。装置の片側のみでシーケンスする場合、遠心の前に未使用のライブラリーチューブストリップを挿入して、アダプターのバランスを必ず確保してください。



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。
	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。
	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。
	保管温度の範囲（摂氏表記）。表示された範囲内で消耗品を保管してください。

REF は個々の構成部品を識別するのに対し、LOT は構成部品が属するロットまたはバッチを識別します。

ユーザーが用意する消耗品および機器

次のセクションでは、ユーザーが用意する必須の消耗品と機器に関する情報を示します。

消耗品

消耗品	サプライヤー	目的
1 N NaOH	一般的なラボ用品サプライヤー	ライブラリー変性用に 0.2 N に希釈。
エアフィルター	イルミナ、カタログ番号： 20073109	エアフィルターの交換。NovaSeq X Plus システムには、1つのエアフィルターが装着済みで、予備のフィルターが 4 つ付属しています。
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。
EZwaste HD 20 L、HDPE、83 mm キャップ、外径 4× 1/16"、3× 1/4" のチューブフィッティングおよびフィルター	VWR、カタログ番号： 76018-560、または同等品、一般的なラボ用品サプライヤー	使用済み試薬バッファー廃液の一括回収。
Contec Polynit Heatseal Wipe	VWR、カタログ番号： 68310-176、または同等品、一般的なラボ用品サプライヤー	フローセルおよびフローセルステージの清掃および乾燥。
マイクロチューブ、1.5 mL	VWR、カタログ番号： 20170-038 または同等品	NaOH とライブラリー希釈時の混合。
試薬グレードの NaOCl、5%	Sigma-Aldrich、 カタログ番号：239305	メンテナンスウォッシュの実施。
Resuspension Buffer	一般的なラボ用品サプライヤー	必要な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、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のピペッティング。
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およびローディングのピペッティング。
ピペットチップ、1000 µL	一般的なラボ用品サプライヤー	ライブラリーの希釈およびローディングのピペッティング。
試薬または分光光度グレードのイソプロピルアルコール (70%)、100 mL ボトル	一般的なラボ用品サプライヤー	フローセルステージの清掃。
水、ラボラトリーグレード	一般的なラボ用品サプライヤー	ライブラリー変性用の NaOH の希釈。
(オプション) PhiX Control v3	イルミナ、カタログ番号： FC-110-3001	PhiX コントロールの添加。

機器

アイテム	ソース
冷凍庫、-25℃～-15℃	一般的なラボ用品サプライヤー
メスシリンダー、500 mL、滅菌済み	一般的なラボ用品サプライヤー
アイスバケット	一般的なラボ用品サプライヤー
ピペット、20 µL	一般的なラボ用品サプライヤー
ピペット、200 µL	一般的なラボ用品サプライヤー
ピペット、1000 µL	一般的なラボ用品サプライヤー
冷蔵庫、2℃～8℃	一般的なラボ用品サプライヤー
タブ、ウォーターバス *	一般的なラボ用品サプライヤー

* 試薬カートリッジが収まり、適切な水位を保てるタブを使用してください。

ラボラトリーグレード水のガイドライン

装置の手順を実行する際は、常にラボラトリーグレード水または脱イオン水を使用してください。水道水は決して使用しないでください。以下のグレードの水または同等品のみを使用してください。

- 脱イオン水
- イルミナ PW1
- 18 メガオーム (MΩ) 水
- Milli-Q 水
- Super-Q 水
- 分子生物学用グレード水

システム設定

本セクションでは、システムのセットアップと設定について説明します。装置上またはネットワーク接続されたコンピューターでシステム設定を変更できます。

装置制御コンピューター、Linux ユーザーアカウント、ネットワーク、セキュリティ設定の詳細については、[『Illumina Instrument Control Computer Security and Networking』](#) を参照してください。

装置の起動

システムに初めて電源を入れる際、NovaSeq X Plus オペレーティングシステムによる NovaSeq X Series Control Software の初期化が完了してから、この Control Software を起動する必要があります。

装置の電源を入れるには、以下の手順を実行します。

1. 装置の背面にあるトグルスイッチをオン (|) 側に押しします。

図 8 電源トグルスイッチの位置



2. 装置の右側にある電源ボタンを押しします。

図 9 電源ボタンの位置



3. オペレーティングシステムが初期化を完了するまで待ちます (約 35 分間)。
4. 管理者のユーザー名と、設置時にイルミナの担当者から提供されたパスワードを入力します。

ユーザーアカウント

NovaSeq X Series Control Software には、次のユーザーグループがあります。

- シーケンサーオペレーター**：このユーザーグループのユーザーは、シーケンスを実行でき、すべてのシーケンス機能にアクセスできます。装置上の Control Software にアクセスするには、ユーザーはシーケンスオペレーターグループに属している必要があります。ユーザーはシーケンサーオペレーターグループに自動的に追加されます。
- 管理者**：このユーザーグループのユーザーは、[Setting] 内のすべての管理者機能にアクセスできます。ユーザーを追加する際に、管理者グループを割り当てることができます。

ユーザー権限

各ユーザーグループには、以下の権限があります。装置上の Control Software にサインインするには、ユーザーはシーケンサーオペレーターグループに含まれている必要があります。管理者権限には、シーケンサーオペレーターの権限がすべて含まれているわけではありません。ただし、ユーザーを追加するときに、両方のグループを選択できます。詳細については、[39 ページの「ユーザーの追加」](#)を参照してください。

権限	シーケンサー オペレーター	管理者
カスタムインデックスアダプターキットおよびカスタムライブラリー調製キットの追加		○
リソースの管理		○
シーケンスランの管理	○	○
ユーザー、パスワードポリシー、アプリケーション、外部ストレージ、および DRAGEN ソフトウェアの管理		○
Control Software の最小化と終了	○	
メンテナンスウォッシュの実行	○	
シーケンスの実行	○	
ソフトウェアアップデートとシステムチェックの実行		○
シーケンスランの計画	○	○
エアフィルターの交換	○	○
クラウド接続の設定	○	○
装置のシャットダウン	○	
装置ドアのロック解除	○	
Control Software の [About] 画面の表示	○	○
監査ログの表示		○
リソースとアプリケーションの表示	○	○

ユーザーの追加

NovaSeq X Series Control Software を使用して、新しいユーザーを追加できます。管理者のみがユーザーを追加できます。

ユーザーが自分の BaseSpace Sequence Hub 認証情報を使用して装置に初めてサインインしたときにクラウドユーザーが自動的に作成されます。クラウドユーザー作成後、そのユーザーグループは手動で変更できます。

ユーザーの追加

新しいユーザーを追加するには、以下の手順を実行します。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Users] を選択します。
3. [Add user] を選択します。
4. 以下の情報を入力します。
 - ユーザー名
 - 名前（名）
 - 名前（姓）
5. [User enabled] チェックボックスを選択して、ユーザーステータスを [Active] に設定します。
6. パスワードを入力します。
ユーザーは初めてサインインしたときにパスワードを変更します。パスワードの推奨事項については、[39 ページの「パスワード要件」](#)を参照してください。
7. ユーザーを管理者として追加するには、[Administrators] チェックボックスを選択します。
管理者がすべての権限にアクセスできるように、[Sequencing Operators] チェックボックスを選択したままにします。グループの権限の詳細については、[38 ページの「ユーザー権限」](#)を参照してください。
8. 設定が完了したら、[Save] を選択します。

パスワード要件

ユーザーを作成する際、次のパスワードの推奨事項に従ってください。

ポリシー	セキュリティ設定
パスワードの長さ	8 ~ 64 文字
パスワードに使用する文字の最小文字数に関する要件	<ul style="list-style-type: none"> • 1 文字以上の英大文字 • 1 文字以上の英小文字 • 1 文字以上の数字 • 1 文字以上の特殊文字
パスワードの履歴	過去に使用したパスワードのうち最近の 5 つと一致しない必要がある

ユーザーの管理

管理者は、NovaSeq X Series Control Software を使用してユーザーを管理できます。ユーザーを追加する方法の詳細については、[38 ページの「ユーザーアカウント」](#)を参照してください。

ユーザーの編集

ユーザー情報およびユーザーグループを編集するには、以下の手順を実行します。ユーザー名を編集することはできません。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Users] を選択します。
3. 編集するユーザーを選択します。
4. ユーザーの設定を編集したら [Save] を選択します。

ユーザーの削除

ユーザーを削除するには、以下の手順を実行します。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Users] を選択します。
3. 削除するユーザーについて [Remove] を選択します。
4. ダイアログボックスで [Yes, remove] を選択します。
5. 削除したい各ユーザーについて、手順 [3](#) および [4](#) を繰り返します。

パスワードの更新

管理者はパスワードのリセットとパスワード設定の更新を実行できます。

パスワードのリセット

管理者は、いつでもパスワードをリセットできます。各ユーザーは、パスワードの有効期限に関する通知を受信したときのみ自分のパスワードをリセットできます。管理者によってパスワードがリセットされた場合、ユーザーは生成された仮パスワードを使用してサインインできます。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Users] を選択します。
3. 編集するユーザーを選択します。
4. [Reset password] を選択します。パスワードに関する制限事項の詳細については、[38 ページの「ユーザーアカウント」](#)を参照してください。
ユーザーは、次にサインインするときに新しいパスワードを入力します。
5. 設定が完了したら、[Save] を選択します。

パスワード設定の編集

管理者は、パスワードの有効期間、サインインの試行が許される回数、および自動的にサインアウトされるまでの時間を編集できます。パスワードが期限切れになると、ユーザーはサインイン時に新しいパスワードを設定するよう促されます。

パスワード設定では、次の初期設定が使用されます。

- パスワードの有効期間：90 日
 - 無効なサインインの回数：5 回
 - 自動的にサインアウトされるまでの時間：30 分
1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
 2. [Settings] を選択してから [Password policy] を選択します。
 3. パスワード設定を必要に応じて編集します。
自動的にサインアウトされるまでの時間は、最大で 60 分に設定できます。
 4. [Save] を選択します。

クラウドと Proactive サポートの設定

以下の手順に従って、システムの Proactive サポートと BaseSpace Sequence Hub または ICA を設定します。BaseSpace Sequence Hub の詳細については、[BaseSpace Sequence Hub サポートサイトページ](#)を参照してください。ICA の詳細については、[Illumina Connected Analytics サポートサイトページ](#)を参照してください。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Cloud settings] を選択します。
3. クラウド接続を有効にするには、[Hosting location] ドロップダウンメニューで BaseSpace Sequence Hub または ICA ドメインの場所を選択します。
4. BaseSpace Sequence Hub Enterprise または ICA を使用する場合は、次のクラウドオプションを設定します。
 - [Private domain name] : BaseSpace Sequence Hub または ICA のドメイン名を入力します。BaseSpace Sequence Hub Professional または Basic のアカウントの場合は入力する必要がありません。
5. [Test configuration] を選択してクラウド接続を確認します。
必要なエンドポイントをファイアウォールの許可リストに追加したことを確認してください。エンドポイントのリストについては、[『Illumina Control Computer Security and Networking』](#)を参照してください。

6. 次のラン設定を選択します。選択したラン設定が初期設定として使用されますが、ランセットアップ時に設定を変更できます。
 - [Cloud run monitoring]：選択すると、リモートでのランモニタリングが有効になります。Proactive サポートは自動的に含まれます。ランのモニタリングは BaseSpace Sequence Hub でのみ表示できます。
 - [Cloud run storage]：ランデータをクラウドに保存し、解析を自動的に開始します。Proactive サポートとランモニタリングは自動的に含まれます。
7. Proactive サポートのみを有効にするには、[Send instrument performance data to Illumina] を選択します。
8. 終了するには、[Save] を選択します。

プロキシサーバーの設定

管理者のみがプロキシサーバーを設定できます。プロキシサーバーを設定する際、IP 設定の詳細も確認できます。

1. NovaSeq X Series Control Software が開いている場合は、最小化または終了します。手順については、[13 ページの「Control Software の最小化と終了」](#)を参照してください。
2. サイドバーから [Instrument Network Configuration] アイコンを選択します。
3. 管理者の認証情報を使用してサインインします。
4. [Proxy Configuration] タブを選択してから、[Enable proxy] を選択します。
5. [Enable proxy] タブを選択したら、サーバーとポートのアドレスを入力します。
6. (オプション) プロキシサーバーで認証が必要な場合、[Requires user name 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。
7. [Update] を選択して、プロキシ情報を保存し確認します。
8. [Instrument Network Configuration] アプリケーションを閉じるには、装置アイコンを選択してから、[Minimize] または [Close] を選択します。

IP 設定の更新

IP 情報に変更がある場合、以下の手順に従って、新しい情報で IP 設定を更新します。

1. NovaSeq X Series Control Software が開いている場合は、最小化または終了します。手順については、[13 ページの「Control Software の最小化と終了」](#)を参照してください。
2. サイドバーから [Instrument Network Configuration] アイコンを選択します。
3. 管理者の認証情報を使用してサインインします。
4. [IP Configuration] タブを選択してから、ホスト名を入力します。
5. ドロップダウンリストからネットワークインターフェースを選択します。

6. 装置の初期セットアップ時にトランスポート層セキュリティ（TLS）証明書をアップロードした場合、[Choose file] を選択してから、該当する証明書ファイルを選択します。
初期セットアップ時に使用したのと同じ証明書を必ずアップロードしてください。
7. [Update] を選択します。
8. [Instrument Network Configuration] アプリケーションを閉じるには、装置アイコンを選択してから、[Minimize] または [Close] を選択します。

デフォルト出力フォルダーの場所の指定

本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指定や外部ストレージのセットアップを実行します。ランセットアップ時に各ランの出力フォルダーを変更できます。ソフトウェアによって、CBCL ファイルおよびその他のランデータが出力フォルダーに保存されます。

クラウドストレージを有効にした場合を除き、出力フォルダーが必要です。ネットワークドライブのみをデフォルト出力フォルダーとして使用します。装置上の出力フォルダーを使用すると、シーケンスランタイムに悪影響が生じます。

ネットワークドライブの追加

以下の手順に従って、常設されている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を指定します。Server Message Block（SMB）と Network File System（NFS）のみが、NovaSeq X Plus システムでネットワークドライブを常時マウントする方法としてサポートされています。

外部ストレージへのネットワークドライブの追加

ネットワークドライブを出力フォルダーとして使用するには、そのネットワークドライブを、利用可能な外部ストレージオプションとして追加しておく必要があります。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [External storage] を選択します。
3. [Add network storage] を選択します。
4. ネットワークドライブの種類を選択します。
5. 以下の情報を入力します。
 - サーバーの場所
 - (オプション) ドメイン
 - ユーザー名
 - パスワード
6. ネットワークストレージに SMB ドライブを使用している場合、ファイル暗号化オプションを選択します。
暗号化（encryption）の使用を推奨します。

7. [Test configuration] を選択してネットワークストレージの接続をテストします。
8. テストが完了したら、[Save] を選択します。

保存が完了すると、そのネットワークストレージオプションを出力フォルダーの場所として利用できます。デフォルトの出力フォルダーオプションを選択する方法の詳細については、[44 ページの「出力フォルダーとしての外部ストレージの指定」](#)を参照してください。

ネットワークドライブを後から削除する場合、[External storage] 画面で該当するサーバーの [Actions] 列にある [Remove volume] を選択します。

出力フォルダーとしての外部ストレージの指定

外部ストレージオプションをデフォルト出力フォルダーとして使用する場合、その外部ストレージ出力フォルダーを次のように選択します。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [External storage] を選択します。
3. サーバーの場所を選択します。
4. 出力フォルダーが追加されている場合は、[Edit folders] を選択してから、[Add folder] を選択します。
5. 出力フォルダーが追加されていない場合は、[Add folder] を選択します。
6. ドロップダウンリストからサーバーの場所を選択し、いずれかの利用可能なフォルダーを選択します。
7. フォルダーのニックネームを入力します。
8. 出力フォルダーの名前を入力します。
9. [Save] を選択します。
10. [Edit folders] 画面で [Remove] を選択すると、出力フォルダーを削除できます。

DRAGEN アプリケーションの管理

管理者は DRAGEN アプリケーションを管理できます。実施予定のランを作成する方法の詳細については、[52 ページの「シーケンスランの計画」](#)を参照してください。

アプリケーションのインストール

管理者のみが、DRAGEN アプリケーションをインストールできます。

1. [NovaSeq X シリーズのサポートページ](#)からアプリケーション(*.zip)をダウンロードします。インストーラーをネットワークドライブに保存します。
2. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
3. [Settings] を選択してから [Applications] を選択します。
4. [Install application] を選択します。

5. アプリケーションファイルに移動し、[Open] を選択します。
6. アプリケーションのアップロードが完了したら、[Install] を選択します。
アプリケーションをインストールした後、アプリケーションの設定を確認できます。[45 ページの「アプリケーションの設定の表示」](#)を参照してください。

アプリケーションの設定の表示

DRAGEN アプリケーションには、デフォルトのライブラリー調製キット、インデックスアダプターキット、リード情報、インデックス情報、および権限が用意されています。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Applications] を選択します。
3. 表示するアプリケーションを選択します。
4. 以下のいずれかの情報を表示します。
 - ライブラリー調製キット
 - インデックスアダプターキット
 - インデックスリード
 - リードタイプ
 - インデックス長
 - リード長
5. 設定が完了したら、[Save] を選択します。

アプリケーションのアンインストール

管理者はアプリケーションをアンインストールできます。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Applications] を選択します。
3. アンインストールするアプリケーションを選択します。
4. [Uninstall] を選択します。
5. アプリケーションのアンインストールを確認します。

リソースファイルのインポート

リファレンスゲノムまたはリファレンスファイルをインポートできます。既存のリファレンスゲノムやリファレンスファイルを削除して、ハードドライブのスペースを空けることができます。

リファレンスゲノムのインポート

[Resources settings] 画面の [Genomes] タブでリファレンスゲノムを追加および削除できます。[Genomes] タブには、ゲノム名が表示されます。また、標準ゲノムまたはカスタムゲノムの場合、種およびゲノムソースが表示されます。

1. シーケンスランまたは装置上の二次解析が進行中でないことを確認してください。
2. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
3. [Settings] を選択してから [Resources] を選択します。
4. [Genomes] タブで [Import Genome] を選択します。
5. リファレンスゲノム (*.tar.gz) に移動し、[Open] を選択します。
6. [Import] を選択します。

リファレンスファイルのインポート

[Resources settings] 画面の [Reference Files] タブでリファレンスファイルを追加および削除できます。[Reference Files] タブには、リファレンスファイル名、ファイルタイプ、ファイルの説明、および関連するリファレンスゲノム数が表示されます。

リファレンスファイルの生成

CNV コーリングを実行する場合、オプションの正常サンプルのパネルファイルを使用できます。正常サンプルのパネルファイルは、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を実現するもので、このアルゴリズムは、外部から提供される一致した正常サンプルを使用して、CNV イベントをコールするベースラインレベルを決定します。これらの正常サンプルは、ケースサンプルに使用したものと同一サンプルタイプ、ライブラリー調製、シーケンスワークフローから得る必要があります。このアルゴリズムにより、サンプル固有ではないシステムレベルのバイアスが除去されます。

体細胞バリエーションと生殖細胞系列バリエーションの両方で正常サンプルのパネルファイルを使用できます。

DRAGEN Enrichment の二次解析を使用する場合、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ノイズを排除できます。標準のカスタムノイズファイルを [イルミナのサポートサイト](#) から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。

次のいずれかのオプションを使用して、正常サンプルのパネルファイルまたはノイズベースラインファイルを生成します。約 50 個のサンプルを使用することを推奨します。

- DRAGEN サーバーを使用します。手順については、[DRAGEN のオンラインヘルプ](#) を参照してください。
- FASTQ、BAM、または CRAM に対応した Illumina DRAGEN Bio-IT Platform の DRAGEN Baseline Builder アプリを使用します。Baseline Builder アプリは、CNV ベースラインファイル (*.combined.counts.txt.gz ファイル) を生成します。

リファレンスファイルのインポート

1. シーケンスランまたは装置上の二次解析が進行中でないことを確認してください。
2. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
3. [Settings] を選択してから [Resources] を選択します。
4. [Reference Files] タブで [Import reference file] を選択します。
5. リファレンスファイルに移動し、[Open] を選択します。
6. (オプション) リファレンスファイルの説明を入力します。
7. 次のいずれかのリファレンスファイルタイプを入力します。
 - AuxCnvPanelOfNormalsFile
 - AuxNoiseBaselineFile
 - BedFile
 - RnaGeneAnnotationFile
8. リファレンスファイルに関連するリファレンスゲノムを選択します。
9. [Save] を選択します。

カスタムライブラリー調製キットおよびカスタムインデックスアダプターキットのインポート

シーケンスランに使用できるよう、カスタムライブラリー調製キットとカスタムインデックスアダプターキットをインポートできます。カスタムキットをインポートするには、管理者である必要があります。カスタムインデックスアダプターキットはカスタムライブラリー調製キットによって参照されるため、先にインポートする必要があります。

カスタムインデックスアダプターキットのインポート

利用可能なテンプレートを使用して、カスタムインデックスアダプターキットをインポートできます。

1. 装置上に NovaSeq X Series Control Software が開いている場合は、最小化します。[13 ページの「Control Software の最小化と終了」](#)を参照してください。
2. 装置上のブラウザーアプリケーションを使用して、リモートの NovaSeq X Series Control Software にアクセスします。手順については、[13 ページの「リモートの NovaSeq X Series Control Software の使用」](#)を参照してください。
3. 左上隅にある [Menu] ドロップダウンを開いてから、[Custom kits] を選択します。
4. TSV テンプレートファイルをダウンロードするには、[Download template] を選択します。TSV テンプレートファイルはリモートの Control Software でのみ利用できます。

5. 以下のセクションを編集します。
フィールドの内容は英数字で始まる必要があり、フィールドでは英数字、ピリオド、ハイフン、およびアンダースコアのみを使用できます。
 - [IndexKit]：インデックスアダプターキットの概要情報で、名前、バージョン、説明、およびインデックスストラテジーが含まれます。
 - [Resources]：リード1およびリード2のアダプターシーケンスを提供できます。インポートされたファイルは、このセクションの値に基づいて、次のオプションのいずれかのインデックスキットタイプに設定されます。
 - 標準レイアウト（非固定）
 - 固定レイアウト（単一プレート）
 - 固定プレートレイアウト（複数プレート）
 - [Indices]：インデックスのリスト。名前、アダプターシーケンス、およびインデックスがインデックス1とインデックス2のどちら用かが表示されます。
6. 山かっこ (< >) に含まれているテンプレートに関する指示を削除してから、TSV ファイルを保存します。
7. [Import index adapter kit] を選択し、カスタムインデックスアダプターキット (*.tsv) に移動して、[Open] を選択します。
8. カスタムインデックスアダプターキットが正常にインポートされたら、名前を選択して情報の確認と編集を実施します。

カスタムライブラリー調製キットの追加

次の手順に従って、カスタムライブラリー調製キットをアップロードします。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Custom kits] を選択します。
3. [Add library prep kit] を選択し、次の情報を入力します。
 - ライブラリー調製キット名
 - (オプション) 説明
 - (オプション) 組織。カスタムライブラリー調製キットを所有する会社や組織。組織をイルミナにすることはできません。
 - 許可されているリードタイプ
 - デフォルトのリードタイプ
 - デフォルトのリードサイクル
4. ドロップダウンリストから、互換性のあるインデックスアダプターキットを1つ以上選択します。
5. [Save] を選択します。
6. ライブラリー調製キットが正常に追加されたら、名前を選択して情報の確認と編集を実施します。

カスタムプライマー

ランにカスタムプライマーを使用する場合は、ランセットアップ時に次の 2 つの追加手順を行う必要があります。

- 各カスタムプライマーを適切な分量だけ調製し、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。
- カスタムレシピをダウンロードし、ランセットアップ中に選択します。

他のすべての手順は、ランセットアップワークフローに従います。シーケンスプロトコールの手順については、[52 ページの「プロトコール」](#)を参照してください。

カスタムプライマーと PhiX

カスタムプライマーをリード 1 またはリード 2 に使用する場合、ソフトウェアは装置に CP1、CP2 ウェルから採取するよう指示します。そのため、イルミナプライマーはシーケンスランに使用されません。イルミナプライマーとは、試薬カートリッジに最初から入っているプライマーを指します。

イルミナプライマーをリード 1 またはリード 2 に使用しない場合、オプションの Illumina 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とともに PhiX を使う場合は、イルミナテクニカルサポートに連絡してガイダンスを受けてください。

i | PhiX はインデックスがないため、どのインデックスプライマーを使用しているかに関わらず、PhiX コントロール由来のシーケンスデータには、インデックスリードは生成されません。

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 TT1 で希釈した後、試薬カートリッジに添加します。先に進む前に、試薬カートリッジが融解されているか、異常がないかを確認してください。TT1 は、Custom Primer Buffer（カタログ番号：20065516）に同梱されています。

カスタムプライマーの調製

- 凍結している場合は、使用する各カスタムプライマーを融解します。
- TT1 を使用してカスタムプライマーを希釈し、次の分量を最終濃度 0.3 μ M に調製します。カスタムのインデックスリードを得るためにプライマーを組み合わせたり、その他、どのような混合プライマーを作成する場合でも、混合液の最終濃度は 0.3 μ M にし、その混合液を構成する各プライマーは、液量として等分である必要があります。

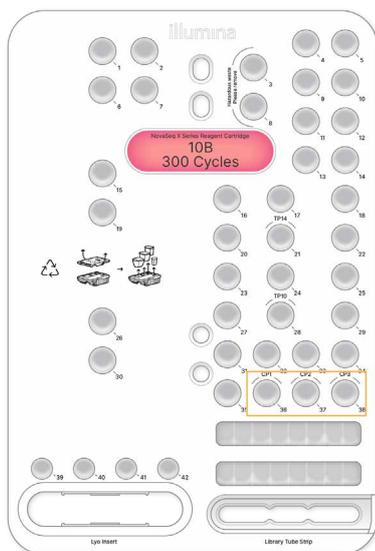
カスタムプライマー	分量 (mL)
カスタムリード 1 プライマー	5.0
カスタムリード 2 プライマー	5.0
カスタムインデックス 1 および 2 プライマー混合液	7.0

カスタムプライマーの添加

1. ラボ用リントフリー紙を使用して、各カスタムプライマー位置を覆っているホイルシールをきれいに拭きます。

位置	カスタムプライマー
CP1	カスタムリード1 プライマー
CP2	カスタムリード2 プライマー
CP3	カスタムインデックス1および2 プライマー混合液

図 10 カスタムプライマーの位置



2. 清浄なピペットチップを使用して、各カスタムプライマー位置を覆っているホイルシールに穴を開けます。
3. 次の分量のカスタムプライマーを試薬カートリッジの適切な位置に添加します。プライマーを分注する際に、ピペットチップがホイルシールに触れないようにしてください。

位置	カスタムプライマー	分量 (mL)
CP1	カスタムリード1 プライマー	5.0
CP2	カスタムリード2 プライマー	5.0
CP3	カスタムインデックス1および2 プライマー混合液	7.0

カスタムプライマーに関するランの設定

カスタムプライマーの使用はランセットアップ中に指定します。ランを選択した後、カスタムレシピファイルをランに追加できます。

1. [イルミナのサポートサイト](#)の NovaSeq X シリーズのページからカスタムレシピ XML ファイルをダウンロードします。
2. [Review run] 画面で、[Custom recipe] の [Select file...] を選択します。
3. カスタムレシピファイルを選択します。
4. ラン情報を確認した後、[Load consumables] を選択して先へ進みます。

プロトコール

本セクションでは、消耗品の準備、ライブラリーの希釈、およびシーケンスランの設定を行う手順について説明します。

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。30 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、および所要時間を用いて、表示されている順序でプロトコールを実施してください。

シーケンスランの計画

次のいずれかのオプションを使用して、NovaSeq X Plus システムのシーケンスランを計画できます。ランを設定すると、計画したランが [Runs] 画面の [Planned] タブに表示され、シーケンスランを開始する際に選択できます。

- クラウドでランを計画するには、BaseSpace Sequence Hub の Run Planning ツールを使用します。ランを計画する前に、クラウド設定が完了していることを確認してください。詳細については、41 ページの「[クラウドと Proactive サポートの設定](#)」を参照してください。
- ローカルでランを計画するには、装置上またはネットワーク接続されたコンピューターで利用可能な NovaSeq X Series Control Software を使用します。

クラウドのシーケンスランの計画

BaseSpace Sequence Hub の Run Planning オプションを使用して、シーケンスランを設定できます。保存したランは、シーケンスの際に装置上で使用できます。装置がクラウドに接続されていない場合は、Run Planning を使用してサンプルシート v2 ファイルを生成し、新しいシーケンスラン用にそのファイルをアップロードできます。

手順については、[イルミナのクラウドランセットアップ](#)を参照してください。

ローカルのシーケンスランの計画

装置でローカルにランを作成するか、ネットワーク接続されたコンピューターを使用してランを作成できます。シーケンス後、装置上の解析が自動で開始されます。CBCL データと DRAGEN の二次解析出力ファイルが、選択された出力フォルダーに保存されます。

ネットワーク接続されたコンピューターを使用する場合、そのコンピューターがシーケンスシステムと同じローカルネットワークに接続されていて、コンピューターにルート証明書がインストールされている必要があります。ネットワーク接続なしでランを設定してシーケンスを実行する場合は、66 ページの「[手動ランの開始](#)」を参照してください。NovaSeq X Series Control Software のアクセス方法と使用方法の詳細については、13 ページの「[リモートの NovaSeq X Series Control Software の使用](#)」を参照してください。

新しいランの作成

新しいシーケンスランをローカルで作成するには、以下の手順を実行します。

1. 装置上でランを作成する場合、装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. ネットワーク接続されたコンピューターでランを作成する場合、左上隅にある [Menu] ドロップダウンを開きます。
3. [Runs] を選択してから [Planned] タブを選択します。
4. Run Planning インターフェースを使用して新しいランを作成する場合、[Create run] を選択します。
5. サンプルシート v2 ファイルを使用して新しいランを作成する場合、[Import run] を選択してからサンプルシート v2 ファイルを開きます。次のいずれかのオプションを使用して、サンプルシートを生成します。
 - リモートの Control Software に移動します。ラン名を選択してから、[Sample Sheet] を選択します。サンプルシートを保存するには、[Save as] を選択します。
 - Illumina Cloud Run Planning でシーケンスランを計画し、ローカルストレージを使用します。ランの計画が終了した後、サンプルシートをエクスポートします。
 - 完了したシーケンスランの出力フォルダーにあるサンプルシートを使用します。
6. [Run name] フィールドに、現在のランを識別するための名前を入力します。ラン名には、英数字、スペース、ハイフン、およびアンダースコアを合計で 255 文字まで使用できます。
7. (オプション) ランの説明を入力します。ランの説明にはアスタリスク (*)、角括弧 ([])、カンマ (,) を使用できません。
8. FASTQ ファイルの圧縮形式を選択します。
9. 各リードで実行するサイクル数を入力します。
 - [Read 1] : 最大で 151 までのサイクル数を入力します。
 - [Index 1] : インデックス 1 のインデックスリードの長さを入力します。PhiX のみのランの場合、両方のインデックスフィールドに 0 を入力します。
 - [Index 2] : インデックス 2 のインデックスリードの長さを入力します。
 - [Read 2] : 最大で 151 までのサイクル数を入力します。この値は通常、[Read 1] の値と同じです。
10. (オプション) ライブラリーチューブ ID を入力します。ライブラリーチューブ ID はライブラリーチューブストリップのラベルに記載されています。
11. [Next] を選択します。
12. 解析アプリケーションを選択します。
13. (オプション) 設定の説明を入力します。
14. ライブラリー調製キットとインデックスアダプターキットを選択します。カスタムライブラリー調製キットとカスタムインデックスアダプターキットを追加する方法の詳細については、[47 ページの「カスタムライブラリー調製キットおよびカスタムインデックスアダプターキットのインポート」](#)を参照してください。
15. [Next] を選択して、二次解析を設定し、サンプル情報を追加します。詳細については、[54 ページの「二次解析の設定」](#)を参照してください。

二次解析の設定

NovaSeq X シリーズシステムでは、1つのシーケンスランで複数の DRAGEN 解析を実施できます。二次解析を設定する前に、装置に適切な DRAGEN アプリケーションがインストールされていることを確認してください。DRAGEN アプリケーションをインストールする方法の詳細については、[44 ページの「アプリケーションのインストール」](#) および [NovaSeq X シリーズの製品関連文書](#) を参照してください。

データをクラウドに保存する場合、追加の BCL Convert のみのアプリケーションに追加して、解析アプリケーションとリファレンスゲノムの組み合わせを 7 つまで作成できます。データをローカルに保存する場合、追加の BCL Convert のみのアプリケーションに追加して、解析アプリケーションとリファレンスゲノムの組み合わせを 3 つまで作成できます。各組み合わせにおいて、異なるライブラリー調製キットや、インデックスアダプターキット、もしくはすでに選択済みの解析アプリケーションとリファレンスゲノムの組み合わせのための構成設定も含め、最大 8 つの構成を使用できます。

組み合わせに関する 7 つまたは 3 つの設定上限には、次の組み合わせが含まれます。

- 同じ解析アプリケーションおよびアプリケーションバージョンと異なるリファレンスゲノムの組み合わせ
- 同じリファレンスゲノムと異なるアプリケーションまたはアプリケーションバージョンの組み合わせ
- 異なるアプリケーションまたはアプリケーションバージョンと異なるリファレンスゲノムの組み合わせ

DRAGEN BCL Convert

以下の手順に従って、DRAGEN BCL Convert 解析を設定します。

1. **(オプション)** [Description] に設定の説明を入力します。
2. ライブラリー調製キットとインデックスアダプターキットを選択します。
3. 次のオプション設定を入力します。

設定	内容説明
Adapter Read 1	リード 1 のアダプターシーケンス。イルミナのライブラリー調製キットを使用する場合、このフィールドは変更できません。
Adapter Read 2	リード 2 のアダプターシーケンス。イルミナのライブラリー調製キットを使用する場合、このフィールドは変更できません。
Override Cycles	リードの UMI サイクルとマスクアウトサイクルを指定します。ライブラリー調製キットとインデックスアダプターキットの情報に従って、値が自動的に入力されます。

4. 次のいずれかのオプションを使用して、DRAGEN BCL Convert 解析に使用するサンプルの情報を入力します。
 - [Download Template] を選択して、*.csv ファイルにサンプル情報を入力します。編集したサンプルテンプレートをインポートするために、[Import Samples] を選択してから CSV ファイルを選択します。

- 外部ファイルから直接、サンプル ID と、インデックスプレートのウェル位置、もしくは i7 および i5 インデックスを貼り付けます。貼り付ける前に、[Rows] フィールドにサンプル行数を入力してから、[+] を選択します。サンプル ID には、英数字、ハイフン、およびアンダースコアを合計で 100 文字まで使用できます。
- i** | 固定レイアウトのインデックスプレートの場合、ウェル位置の入力が必要です。固定レイアウトではないインデックスでは、i7 および i5 インデックスの入力が必要です。i5 インデックスは順鎖配列で入力する必要があります。
- サンプル ID および対応するレーン、ウェル位置またはインデックス、バーコードミスマッチ数、およびプロジェクトを手動で入力します。ライブラリー調製キットに [Not Specified] を選択した場合、インデックス 1 (i7) およびインデックス 2 (i5) シーケンスを順鎖配列で入力します。
- [Next] を選択して、ランの詳細を確認します。
 - (オプション)** 次のいずれかの操作を実行します。
 - ラン設定または構成設定を編集するには、[Run] または [Configuration] の隣にある [Edit] を選択します。
 - 構成を削除するには、構成の隣にある [Delete] を選択してから、[Yes, delete] を選択します。
 - 別の解析構成をランに追加するには、[Add another configuration] を選択します。
 - 次のいずれかのオプションを選択して、ランを保存します。
 - ランの詳細を後で編集するには、[Save as draft] を選択します。
 - クラウドにデータを保存する場合、[Save as planned] を選択して、シーケンスのためのランの詳細と計画を完成させます。
 - ローカルにデータを保存する場合、[Export] を選択してサンプルシート v2 ファイルをエクスポートします。

DRAGEN Enrichment

以下の手順に従って、DRAGEN Enrichment 解析を設定します。

- (オプション)** [Description] に設定の説明を入力します。
- ライブラリー調製キットとインデックスアダプターキットを選択します。
- リファレンスゲノムを選択します。
可能であれば、alt mask リファレンスゲノムを使用します。カスタムリファレンスゲノムをインポートする手順については、[46 ページの「リファレンスゲノムのインポート」](#) および BaseSpace Sequence Hub サポートサイトページを参照してください。
- 生殖細胞系列バリエーションタイプまたは体細胞バリエーションタイプを選択します。
- バリエーションコールで用いるワークフローを選択します。[None] を選択した場合、アライメントのみが実行されます。[All] を選択した場合、以下のバリエーションコーリングワークフローが実行されます。
 - スモールバリエーションコーラー
 - 構造バリエーションコーラー
 - コピー数バリエーション (CNV) コーラー (正常サンプルのパネルファイルが提供された場合)

6. ターゲットとする領域を含む *.bed ファイルを選択するか、新しいカスタムファイルをアップロードします。*.bed ファイルは、スモールバリエーションコーリングまたはすべてのバリエーションコーリングを実行する場合のみ必要です。
BED ファイルのリファレンスゲノムが選択したリファレンスゲノムと一致していることを確認してください。リファレンスファイルをインポートする手順については、[46 ページの「リファレンスファイルのインポート」](#) および [BaseSpace Sequence Hub サポートサイトページ](#)を参照してください。
7. (オプション) 体細胞バリエーションタイプを使用する場合、ノイズベースラインファイルを選択します。ノイズベースラインファイルをインポートする手順については、[46 ページの「リファレンスファイルのインポート」](#) および [BaseSpace Sequence Hub サポートサイトページ](#)を参照してください。
8. (オプション) CNV コーラーを使用する場合、正常サンプルのパネルファイルを選択します。正常サンプルのパネルファイルをインポートする手順については、[46 ページの「リファレンスファイルのインポート」](#) および [BaseSpace Sequence Hub サポートサイトページ](#)を参照してください。
9. 次のオプション設定を入力します。

設定	内容説明
Adapter Read 1	リード1のアダプターシーケンス。イルミナのライブラリー調製キットを使用する場合、このフィールドは変更できません。
Adapter Read 2	リード2のアダプターシーケンス。イルミナのライブラリー調製キットを使用する場合、このフィールドは変更できません。
Override Cycles	リードの UMI サイクルとマスクアウトサイクルを指定します。ライブラリー調製キットとインデックスアダプターキットの情報に従って、値が自動的に入力されます。

10. 次のいずれかのオプションを使用して、DRAGEN Enrichment 解析に使用するサンプルの情報を入力します。
 - [Download Template] を選択して、*.csv ファイルにサンプル情報を入力します。編集したサンプルテンプレートをインポートするために、[Import Samples] を選択してから CSV ファイルを選択します。
 - 外部ファイルから直接、サンプル ID と、インデックスプレートのウェル位置、もしくは i7 および i5 インデックスを貼り付けます。貼り付ける前に、[Rows] フィールドにサンプル行数を入力してから、[+] を選択します。サンプル ID には、英数字、ハイフン、およびアンダースコアを合計で 100 文字まで使用できます。

i | 固定レイアウトのインデックスプレートの場合、ウェル位置の入力が必要です。固定レイアウトではないインデックスでは、i7 および i5 インデックスの入力が必要です。i5 インデックスは順鎖配列で入力する必要があります。

 - サンプル ID および対応するレーン、ウェル位置またはインデックス、バーコードミスマッチ数、およびプロジェクトを手動で入力します。ライブラリー調製キットに [Not Specified] を選択した場合、インデックス 1 (i7) およびインデックス 2 (i5) シーケンスを順鎖配列で入力します。

11. マッピングやアライメントの出力形式を選択します。
[Analysis Settings] セクションでは、シーケンスランに対して作成された最初の Enrichment 構成の設定を使用します。設定を変更するには、最初の Enrichment 構成を編集します。
12. ローカルにデータを保存する場合、[Select] を選択し、FASTQ ファイルのコピーを保存する場所を選択します。FASTQ ファイルは、FASTQ ファイルを保持することを選択した場合のみ生成されます。
13. **(オプション)** 次のいずれかの操作を実行します。
 - ラン設定または構成設定を編集するには、[Run] または [Configuration] の隣にある [Edit] を選択します。
 - 構成を削除するには、構成の隣にある [Delete] を選択してから、[Yes, delete] を選択します。
 - 別の解析構成をランに追加するには、[Add another configuration] を選択します。
14. 次のいずれかのオプションを選択して、ランを保存します。
 - ランの詳細を後で編集するには、[Save as draft] を選択します。
 - クラウドにデータを保存する場合、[Save as planned] を選択して、シーケンスのためのランの詳細と計画を完成させます。
 - ローカルにデータを保存する場合、[Export] を選択してサンプルシート v2 ファイルをエクスポートします。

DRAGEN RNA

以下の手順に従って、DRAGEN RNA 解析を設定します。

1. **(オプション)** [Description] に設定の説明を入力します。
2. ライブラリー調製キットとインデックスアダプターキットを選択します。
3. リファレンスゲノムを選択します。
可能であれば、alt mask リファレンスゲノムを使用します。カスタムリファレンスゲノムをインポートする手順については、[46 ページの「リファレンスゲノムのインポート」](#) および [BaseSpace Sequence Hub サポートサイトページ](#)を参照してください。
4. **(オプション)** RNA アノテーションファイルを選択します。
RNA アノテーションファイルを追加する方法の詳細については、[46 ページの「リファレンスファイルのインポート」](#) および [BaseSpace Sequence Hub サポートサイトページ](#)を参照してください。
5. **(オプション)** ダウンサンプリングを有効にするには、[Yes] を選択します。
6. ダウンサンプリングを実行する場合、ダウンサンプリングを実行するリード数を選択します。
7. 次のオプション設定を入力します。

設定	内容説明
Adapter Read 1	リード1のアダプターシーケンス。イルミナのライブラリー調製キットを使用する場合、このフィールドは変更できません。
Adapter Read 2	リード2のアダプターシーケンス。イルミナのライブラリー調製キットを使用する場合、このフィールドは変更できません。

設定	内容説明
Override Cycles	リードの UMI サイクルとマスクアウトサイクルを指定します。ライブラリー調製キットとインデックスアダプターキットの情報に従って、値が自動的に入力されます。

8. 次のいずれかのオプションを使用して、DRAGEN RNA 解析に使用するサンプルの情報を入力します。
 - [Download Template] を選択して、*.csv ファイルにサンプル情報を入力します。編集したサンプルテンプレートをインポートするために、[Import Samples] を選択してから CSV ファイルを選択します。
 - 外部ファイルから直接、サンプル ID と、インデックスプレートのウェル位置、もしくは i7 および i5 インデックスのを貼り付けます。貼り付ける前に、[Rows] フィールドにサンプル行数を入力してから、[+] を選択します。サンプル ID には、英数字、ハイフン、およびアンダースコアを合計で 100 文字まで使用できます。

i | 固定レイアウトのインデックスプレートの場合、ウェル位置の入力が必要です。固定レイアウトではないインデックスでは、i7 および i5 インデックスの入力が必要です。i5 インデックスは順鎖配列で入力する必要があります。

 - サンプル ID および対応するレーン、ウェル位置またはインデックス、バーコードミスマッチ数、およびプロジェクトを手動で入力します。ライブラリー調製キットに [Not Specified] を選択した場合、インデックス 1 (i7) およびインデックス 2 (i5) シーケンスを順鎖配列で入力します。
9. map/align の出力形式を選択します。
[Analysis Settings] セクションでは、シーケンスランに対して作成された最初の RNA 構成の設定が使用されます。設定を変更するには、最初の RNA 構成を編集します。
10. ローカルにデータを保存する場合、FASTQ ファイルのコピーを保存するかどうかを選択します。FASTQ ファイルは、FASTQ ファイルを保持することを選択した場合のみ生成されます。
11. 実行するパイプラインモードを選択します。パイプラインモードによって、生成される出力ファイルが決まります。フルパイプライン出力には、遺伝子融合検出と遺伝子発現定量が含まれます。
12. フルパイプラインモードを実行する場合、発現差異を有効にするかどうかを選択します。
13. 発現差異 [Differential expression] を有効にした場合、各サンプルがコントロール [Control] であるか比較 [Comparison] であるかの値を選択します。その情報を手動で選択するか、インポートサンプルテンプレートをダウンロードし、解析比較グループを変更して、編集したテンプレートをインポートします。解析比較値を選択する際は、以下のガイドラインに従ってください。
 - サンプルにコントロール値または比較値が含まれていない場合、値として NA を選択するか、値をブランクのままにします。
 - 各解析グループで、コントロールとして指定されたサンプルは、比較として指定されたすべてのサンプルと比較されます。
 - 各解析グループには、2 ~ 15 個のコントロールサンプルと 2 ~ 15 個の比較サンプルが含まれている必要があります。
 - 異なるリファレンスゲノムファイルまたは異なる RNA 遺伝子アノテーションファイルを使用する RNA 解析構成間で解析グループを再使用してはなりません。

14. [Next] を選択して、ランの詳細を確認します。

15. (オプション) 次のいずれかの操作を実行します。

- ラン設定または構成設定を編集するには、[Run] または [Configuration] の隣にある [Edit] を選択します。
- 構成を削除するには、構成の隣にある [Delete] を選択してから、[Yes, delete] を選択します。
- 別の解析構成をランに追加するには、[Add another configuration] を選択します。

16. 次のいずれかのオプションを選択して、ランを保存します。

- ランの詳細を後で編集するには、[Save as draft] を選択します。
- クラウドにデータを保存する場合、[Save as planned] を選択して、シーケンスのためのランの詳細と計画を完成させます。
- ローカルにデータを保存する場合、[Export] を選択してサンプルシート v2 ファイルをエクスポートします。

DRAGEN Germline

以下の手順に従って、DRAGEN Germline 解析を設定します。

1. (オプション) [Description] に設定の説明を入力します。

2. ライブラリー調製キットとインデックスアダプターキットを選択します。

3. リファレンスゲノムを選択します。

可能であれば、alt mask リファレンスゲノムを使用します。カスタムリファレンスゲノムをインポートする手順については、[46 ページの「リファレンスゲノムのインポート」](#) および [BaseSpace Sequence Hub サポートサイトページ](#)を参照してください。

4. バリエーションコールで用いるワークフローを選択します。[None] を選択した場合、アライメントのみが実行されます。[All] を選択した場合、以下のバリエーションコーリングワークフローが実行されます。

- スモールバリエーションコーラー
- 構造バリエーションコーラー
- コピー数バリエーション (CNV) コーラー
- リピート伸長検出
- CYP2D6 コーラー
- ホモ接合性領域 (ROH) コーラー

5. 次のオプション設定を入力します。

設定	内容説明
Adapter Read 1	リード1のアダプターシーケンス。イルミナのライブラリー調製キットを使用する場合、このフィールドは変更できません。
Adapter Read 2	リード2のアダプターシーケンス。イルミナのライブラリー調製キットを使用する場合、このフィールドは変更できません。
Override Cycles	リードの UMI サイクルとマスクアウトサイクルを指定します。ライブラリー調製キットとインデックスアダプターキットの情報に従って、値が自動的に入力されます。

6. 次のいずれかのオプションを使用して、DRAGEN Germline 解析に使用するサンプルの情報を入力します。

- [Download Template] を選択して、*.csv ファイルにサンプル情報を入力します。編集したサンプルテンプレートをインポートするために、[Import Samples] を選択してから CSV ファイルを選択します。
- 外部ファイルから直接、サンプル ID と、インデックスプレートのウェル位置、もしくは i7 および i5 インデックスを貼り付けます。貼り付ける前に、[Rows] フィールドにサンプル行数を入力してから、[+] を選択します。サンプル ID には、英数字、ハイフン、およびアンダースコアを合計で 100 文字まで使用できます。

i | 固定レイアウトのインデックスプレートの場合、ウェル位置の入力が必要です。固定レイアウトではないインデックスでは、i7 および i5 インデックスの入力が必要です。i5 インデックスは順鎖配列で入力する必要があります。

- サンプル ID および対応するレーン、ウェル位置またはインデックス、バーコードミスマッチ数、およびプロジェクトを手動で入力します。ライブラリー調製キットに [Not Specified] を選択した場合、インデックス 1 (i7) およびインデックス 2 (i5) シーケンスを順鎖配列で入力します。

7. map/align の出力形式を選択します。

[Analysis Settings] セクションでは、シーケンスランに対して作成された最初の Germline 構成の設定が使用されます。設定を変更するには、最初の Germline 構成を編集します。

8. ローカルにデータを保存する場合、FASTQ ファイルのコピーを保存するかどうかを選択します。FASTQ ファイルは、FASTQ ファイルを保持することを選択した場合のみ生成されます。

9. [Next] を選択して、ランの詳細を確認します。

10. (オプション) 次のいずれかの操作を実行します。

- ラン設定または構成設定を編集するには、[Run] または [Configuration] の隣にある [Edit] を選択します。
- 構成を削除するには、構成の隣にある [Delete] を選択してから、[Yes, delete] を選択します。
- 別の解析構成をランに追加するには、[Add another configuration] を選択します。

11. 次のいずれかのオプションを選択して、ランを保存します。

- ランの詳細を後で編集するには、[Save as draft] を選択します。
- クラウドにデータを保存する場合、[Save as planned] を選択して、シーケンスのためのランの詳細と計画を完成させます。
- ローカルにデータを保存する場合、[Export] を選択してサンプルシート v2 ファイルをエクスポートします。

消耗品の融解

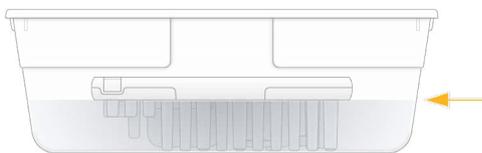
以下の手順に従って、シーケンスの前に消耗品を融解します。

温度調節されたウォーターバスでの試薬カートリッジの融解

以下の手順に従って、室温のウォーターバス（15℃～ 30℃）で試薬カートリッジを融解します。

! 融解中にライブラリーチューブストリップまたは Lyo インサートを試薬カートリッジに挿入すると、データ品質の低下やランの失敗を招く場合があります。

1. 新しいパウダフリーの手袋を着用し、-25℃～ -15℃の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の入った袋を取り出し、さらに袋からカートリッジを取り出します。
3. 試薬カートリッジを室温のウォーターバスに入れ、水がカートリッジカバーの底部に達するまで試薬カートリッジを沈めます。



! 試薬の融解にお湯を使用すると、データ品質の低下やランの失敗を招く場合があります。

4. 4 時間融解します。24 時間を超えないでください。
5. カートリッジの下側から、位置番号 12 のウェルを点検して、氷が残っていないことを確認します。このウェルに氷が残っていないければ、すべての試薬が融解していることを示しています。
6. ペーパータオルを使用してカートリッジの水分を拭き取ります。カートリッジ下部のウェルとウェルの間を拭き、水分を取り除きます。
7. 作業台の上でカートリッジを裏返すかカートリッジの底を優しく叩き、残っている水分を除去します。
8. ホイルシールに水分が付着していないか点検します。
9. 水分がまだ残っている場合は、リントフリー紙で吸い取ります。
10. 作業台の上でカートリッジの底を優しく叩き、気泡を減らします。
11. 試薬を 24 時間以内に装置にロードできない場合は、2℃～ 8℃で最長 72 時間保管します。

冷蔵庫での試薬カートリッジの融解

以下の手順に従って、2℃～8℃の冷蔵庫で試薬カートリッジを融解します。

融解中にライブラリーチューブストリップまたは Lyo インサートを試薬カートリッジに挿入しないでください。

1. 新しいパウダフリーの手袋を着用し、-25℃～-15℃の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の入った袋を取り出し、さらに袋からカートリッジを取り出します。
3. 2℃～8℃の冷蔵庫で48時間融解します。
4. 試薬を24時間以内に装置にロードできない場合は、2℃～8℃で最長72時間保管します。

Lyo インサートの融解

1. -25℃～-15℃の保管庫から Lyo インサートを取り出します。
2. 室温で10分間融解します。
3. Lyo インサートを24時間以内にロードできない場合は、-25℃～-15℃の保管庫に戻します。

プレロードバッファーおよびカスタムプライマーバッファーの融解

1. -25℃～-15℃の保管庫からプレロードバッファーおよびカスタムプライマーバッファーを取り出します。
2. 室温で10分間融解してから、5回転倒混和させます。
3. プレロードバッファーおよびカスタムプライマーバッファーを8時間以内にロードできない場合は、-25℃～-15℃の保管庫に戻します。

フローセルの融解

1. 2℃～8℃の保管庫からフローセルの新しいパッケージを取り出します。
2. 密封されたフローセルパッケージを10～15分間放置して、フローセルを室温にします。
3. 使用するまでフローセルをパッケージに入れたままにします。フローセルは保管庫から取り出してから2時間以内に使用してください。フローセルを2時間以内に使用できない場合は、2℃～8℃の保管庫に戻し、24時間以内に使用してください。

ライブラリーの変性および希釈

以下の手順に従って、NovaSeq X Plus システムでのシーケンス用に調製済みライブラリーを変性させて希釈します。

推奨ローディング濃度

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。次の表に推奨最終ローディング濃度を示します。

ライブラリータイプ	最終ローディング濃度 (pM)
Illumina DNA Prep with Enrichment	150
Illumina DNA PCR-Free	180
Illumina Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plus	150
TruSeq DNA PCR-Free	90
TruSeq DNA Nano 350	160
TruSeq DNA Nano 550	160
PhiX	140

i | 最適な %PF が得られる最適なシーディング濃度を得るために、ライブラリータイプについて最適濃度の検討が必要になることがあります。最適なローディング濃度を決定したら、同一のライブラリータイプに適用することができます。

NaOH の調製

シーケンス用のライブラリー変性のために、0.2 N NaOH¹ を使用直前に用事調製します。小さい液量をピペッティングすることで生じるエラーで最終 NaOH 濃度に影響を与えないよう、多めの量を調製します。

1. マイクロチューブに以下の分量を混ぜ合わせます。

試薬	1 フローセルの分量 (μL)	2 フローセルの分量 (μL)
ラボラトリーグレード水	90	180
ストック 2N NaOH	10	20

溶液量は、1 フローセルの場合は 0.2 N NaOH が 100 μL、2 フローセルの場合は 0.2 N NaOH が 200 μL となります。

2. チューブをボルテックスした後、数回遠心して混合します。

¹水酸化ナトリウム

ライブラリーの希釈および変性

以下の手順に従って、シーケンス用のライブラリーを調製します。

記載容量には、余剰試薬分が含まれます。

ライブラリーの希釈と PhiX コントロールの添加

- RSB を使用してライブラリーを 2 nM に希釈します。
- 新しい 1.5 mL マイクロチューブで、RSB を用いて目標とする最終ローディング濃度にライブラリーを希釈します。
最終量はサンプルウェルあたり 40 μ L である必要があります。

最終ローディング濃度 (pM)	2 nM ライブラリー (μ L)	RSB (μ L)
90	9	31
100	10	30
110	11	29
120	12	28
130	13	27
140	14	26
150	15	25
160	16	24
170	17	23
180	18	22

- (オプション) 1～2% の未変性の PhiX を以下の要領で添加します。
 - RSB を用いて 10 nM PhiX を 1 nM に希釈します。
 - 1 μ L の PhiX を目的のライブラリー濃度に希釈した 40 μ L の未変性のライブラリーに添加します。

ライブラリーの変性

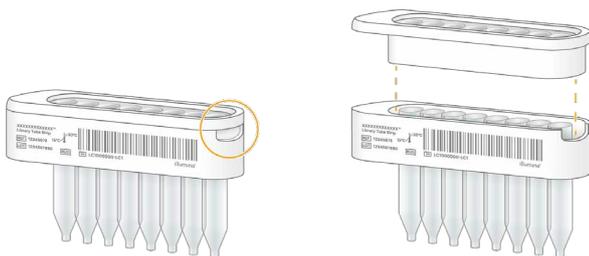
- 10 μ L の 0.2 N NaOH を未変性のライブラリーチューブおよびオプションの PhiX に添加します。
- キャップを閉じた後、短時間ボルテックスします。
- 変性させるため、室温で 5 分間インキュベートします。
- 150 μ L のプレロードバッファを添加して中和します。
- キャップを閉じた後、短時間ボルテックスします。
- 最大 1 分間、280 \times g で遠心します。
- ライブラリーチューブストリップに移すまでライブラリーを氷上に保管します (65 ページの「[Lyo インサートおよびライブラリーチューブストリップのロード](#)」を参照)。

Lyo インサートおよびライブラリーチューブストリップのロード

シーケンスの前に、以下の手順で Lyo インサートとライブラリーチューブストリップを試薬カートリッジにロードします。

1. ライブラリーチューブストリップ上のライブラリーチューブ ID を記録します。ライブラリーチューブ ID は、シーケンスランを計画するときに使用します。
2. ライブラリーチューブストリップのキャップを取り外します。ライブラリーチューブストリップのホイールに穴を開けないでください。

図 11 ライブラリーチューブストリップのキャップの取り外し



3. 変性済みのライブラリーまたは PhiX を添加した変性済みのライブラリーを 160 μ L ずつ各サンプルチューブに分注します。
4. 160 μ L のプレロードバッファーを未使用のサンプルチューブに添加します。
5. ライブラリーを分注した後、ライブラリーチューブストリップにキャップを取り付けます。チューブの底部にエアギャップがないことを確認します。
6. ライブラリーチューブストリップアダプターを使用して、1 分間、280 \times g で遠心します。ライブラリーがチューブの底部に回収されない場合は、遠心を繰り返します。
7. ライブラリーチューブストリップを試薬カートリッジに挿入し、押し込みます。カチッという音によりライブラリーチューブストリップが固定されたことが分かります。
8. Lyo インサートを試薬カートリッジに挿入し、押し込みます。カチッという音により Lyo インサートが固定されたことが分かります。

シーケンスランの開始

計画されたラン (Planned Run) を選択するか手動ランを作成することにより、シーケンスを開始できます。シーケンスランを計画する方法の詳細については、[52 ページの「シーケンスランの計画」](#)を参照してください。クラウドでデータを解析する場合、BaseSpace Sequence Hub または ICA で二次解析が自動的に開始されます。データをローカルで解析する場合、装置上の解析が自動的に開始され、選択された出力フォルダーに出力ファイルが保存されます。

計画されたランの開始

以下の手順に従って、計画されたラン (Planned Run) からシーケンスを開始します。BaseSpace Sequence Hub または ICA を使用する場合は、クラウド設定が完了していることを確認してください。詳細については、[41 ページの「クラウドと Proactive サポートの設定」](#) を参照してください。

1. サインインしていない場合は、[73 ページの「サインインおよびサインアウト」](#) に記載されている手順に従います。
2. [Start] 画面に移動し、[Start] を選択します。
3. ランを実行する装置のサイド (A 側、B 側、または両方) を選択します。
4. 各サイドに対し、計画されたランのリストから、適切なランを選択します。
手動ランを作成するには、[Manual] を選択します。手順については、[66 ページの「手動ランの開始」](#) を参照してください。
5. [Review] を選択して、ラン情報を確認します。
6. **(オプション)** カスタムレシピファイルを選択します。カスタムプライマーを使用する場合、詳細については、[49 ページの「カスタムプライマー」](#) を参照してください。
Illumina Stranded Total RNA Prep with Ribo-Zero Plus キットまたは Illumina Stranded mRNA Prep キットを使用する場合、[118 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。
7. ラン情報を確認した後、[Load consumables] を選択します。
手順については、[67 ページの「消耗品のロード」](#) を参照してください。

手動ランの開始

以下の手順に従って、手動ランを作成します。

1. サインインしていない場合、ユーザー名とパスワードを入力してから、[Sign In] を選択します。
2. [Start] を選択します。
3. ランを実行する装置のサイド (A 側、B 側、または両方) を選択します。
4. ランリストの一番上で [Manual] を選択し、手動ランの入力に切り替えます。
[Planned] がデフォルト値です。
5. ラン名を入力します。
ラン名には、英数字、スペース、ハイフン、およびアンダースコアを合計で 225 文字まで使用できます。
6. リードタイプにシングルまたはペアエンドを選択します。
7. 各リードで実行するサイクル数を入力します。
 - [Read 1] : 最大で 151 までのサイクル数を入力します。
 - [Index 1] : インデックス 1 のインデックスリードの長さを入力します。PhiX のみのランの場合、両方のインデックスフィールドに 0 を入力します。
 - [Index 2] : インデックス 2 のインデックスリードの長さを入力します。
 - [Read 2] : 最大で 151 までのサイクル数を入力します。この値は通常、[Read 1] の値と同じです。

8. 出力フォルダーを選択します。
システム設定のデフォルト出力フォルダーを変更できます。詳細については、[43 ページの「デフォルト出力フォルダーの場所の指定」](#)を参照してください。
 9. (オプション) カスタムレシピファイルを選択します。
 10. (オプション) サンプルシートを選択します。
- i** | 選択するサンプルシートは、v2 形式である必要があります。サンプルシート v2 を作成するには、Run Planning から生成されたサンプルシートをダウンロードします。
11. [Review] を選択して、ランを確認します。
 12. 完了したら、[Load consumables] を選択します。

消耗品のロード

以下の手順に従って、消耗品をロードします。

シングルランを使用する場合、選択されていない装置のサイド（A 側、または B 側）は編集できず、アイドルステータスであることが表示されます。

フローセルのロード

以下の手順に従って、フローセルを装置にロードします。

1. ロードする前にフローセルが室温に達していることを確認します。
2. [Load consumables] 画面で [Load flow cells] を選択します。
選択した後、ディスプレイモニターが上昇し、フローセルドアが開きます。フローセルのライトが、シーケンスが実行される装置のサイドを示します。
フローセルステージが完全に手前に移動するまで待ってから、先に進みます。
3. 使用済みのフローセルを取り出し、各地域の適切な基準に従って廃棄します。フローセルはリサイクル可能ではありません。
4. フローセルステージに夾雑物（微粒子、細かいごみ、乾燥した試薬など）がないか点検します。夾雑物がある場合、以下の手順でフローセルステージを清掃します。
 - a. イソプロピルアルコール（70%）で Polynit Heatseal Wipe を湿らせます。
 - b. 該当する表面を優しく清掃します。必ず縦方向にのみ拭きます。
フローセルステージを拭く際、マニフォールドに夾雑物がある場合を除き、マニフォールドには触れないでください。
 - c. 表面のすべての夾雑物がなくなるまで、手順 a および b を繰り返します。
 - d. 汚染を避けるために、表面に残っている液体を新しい Polynit Heatseal Wipe か使用したワイブの未使用の側で拭き取ります。
5. フローセルのガラス面の汚染を防ぐため、新しいパウダーフリーの手袋を着用します。
6. フローセルホイールパッケージを平らな面に置き、角にあるタブからホイールを開きます。

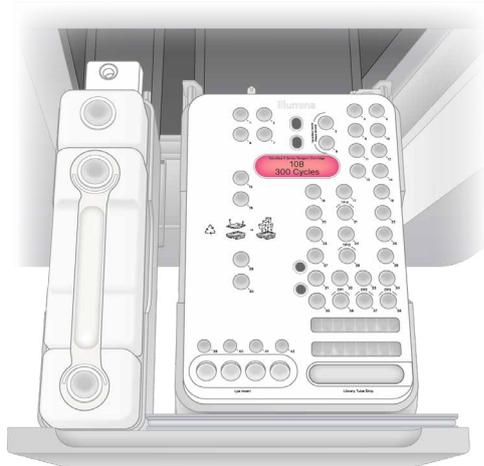
7. パッケージからフローセルを取り出します。ガラスまたは裏面のガスケットに触れないように、フローセルの側面を持ちます。
8. フローセルに夾雑物（微粒子、細かいごみ、乾燥した試薬など）がないか点検します。夾雑物がある場合、以下の手順でフローセルを清掃します。
 - a. イソプロピルアルコール（70%）で Polynit Heatseal Wipe を湿らせます。
 - b. 該当する表面を優しく清掃します。必ず縦方向にのみ拭きます。
 - c. 表面のすべての夾雑物がなくなるまで、手順 a および b を繰り返します。
 - d. 汚染を避けるために、表面に残っている液体を新しい Polynit Heatseal Wipe が使用したワイプの未使用の側で拭き取ります。
9. パッケージを適切に廃棄します。
10. フローセルの上面を上に向けて、フローセルステージに載せます。
11. フローセルがロードされたら、[Close flow cell door] を選択します。
12. フローセルが認識された後、試薬カートリッジとバッファークートリッジをロードできます。[68 ページの「試薬カートリッジおよびバッファークートリッジのロード」](#)を参照してください。
13. すべての消耗品がロードされたら、[Verify] を選択します。
14. ランの詳細を確認してから、[Start Run] を選択します。

試薬カートリッジおよびバッファークートリッジのロード

以下の手順に従って、試薬カートリッジとバッファークートリッジを装置にロードします。

1. ロードの前に、試薬カートリッジが事前に融解されており、Lyo インサートとライブラリーチューブストリップがカートリッジに挿入されていることを確認します。
2. [Load consumables] 画面で [Load reagents and buffers] を選択します。
装置ドアのロックが自動的に解除され、試薬カートリッジとバッファークートリッジのロードに関する情報がシステムに表示されます。
3. 使用済みの試薬カートリッジとバッファークートリッジを取り出します。試薬カートリッジとバッファークートリッジをリサイクルする手順については、[73 ページの「使用済みの消耗品のリサイクル」](#)を参照してください。
4. バッファークートリッジホイールに漏れがないかを調べます。
5. カートリッジを以下の手順でロードします。
 - バッファークートリッジを左側に置きます。
 - イルミナのラベルを正面に向けて試薬カートリッジを右側に置きます。

図 12 ロードされた消耗品



6. 廃液ボトルを空にします。詳細については、69 ページの「廃液ボトルを空にする」を参照してください。
7. 廃液ボトルを空にしたら、[Confirm] を選択します。
8. 試薬と廃液の引き出しを閉じて、装置ドアを閉じます。
9. すべての消耗品がロードされたら、[Verify] を選択します。
10. ランの詳細を確認してから、[Start Run] を選択します。
ランが開始されると、装置ドアは自動的にロックされます。

廃液ボトルを空にする

以下の手順に従って、各シーケンスランの前に廃液ボトルを空にします。使用済みの試薬カートリッジとバッファボトルをリサイクルする方法の詳細については、73 ページの「使用済みの消耗品のリサイクル」を参照してください。

- ! | 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詳しくは、jp.support.illumina.com/sds.html に掲載の SDS を参照してください。

廃液ボトル（小）を空にする

1. 廃液引き出しの奥から廃液ボトル（小）を取り出します。ボトルの側面を持ちます。
2. 廃液ボトル背面のキャップホルダーからスクリーキャップを取り外します。
3. ボトルの開口部をキャップで塞ぎ、処理済み試薬がこぼれないようにします。
4. ボトルの中身は廃液ボトル（大）の中身から離しておき、各地域の適切な基準に従って廃棄します。
5. キャップを外したボトルを廃液引き出しに戻します。外したキャップはキャップホルダーに保管します。



廃液ボトル（大）を空にする

1. 上部のハンドルを持って廃液ボトル（大）を廃液引き出しの前面から取り出します。
2. 廃液ボトル背面のキャップホルダーからスクリーキャップを取り外します。
3. ボトルの開口部をキャップで塞ぎ、処理済み試薬がこぼれないようにします。
4. 通気孔の栓を外します。
通気孔の栓を外すと、ボトルの側面からの漏れを最小限に抑えることができます。
5. 各地域の適切な基準に従って、中身を廃棄します。中身を空けるときは、両方のハンドルをつかみます。
6. ボトルを空にしたら、通気孔を栓で塞ぎます。
7. キャップを外したボトルを通気孔に栓を付けた状態で廃液引き出しに戻します。スクリーキャップはキャップホルダーに保管します。



8. 新しいパウダーフリーの手袋を着用します。

プレランチェック

プレランチェックには、ソフトウェアシステムチェック、装置チェック、アライメントチェック、フルイデックスチェックが含まれます。

1. プレランチェックが完了するまで約 35 分間待機します。
プレランチェックが完了すると、自動的にランが開始されます。
 2. プレランチェックを停止するには、[Cancel] を選択してから、確認のために [Yes, cancel checks] を選択します。
- !** | フルイデックスチェック開始以降は、その消耗品の再使用はできません。
3. 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。
 4. フルイデックスエラーが発生した場合は、次のいずれかを選択します。フルイデックスチェックの再実施はできません。
 - [Return to start] : [Start] 画面に戻ります。
 - [Back to consumables] : [Load Consumables] 画面に戻ります。

ランの進捗状況のモニタリング

[Sequencing] 画面でランの進捗状況のモニタリング、ランのキャンセル、または新しいランの開始を実行できます。ランの進捗状況は、装置またはネットワーク接続されたコンピューターでモニタリングできます。クラウドでのランモニタリングを有効にしている場合、BaseSpace Sequence Hub でランの進捗状況を確認できます。ランのその他の詳細やランステータスを確認するには、[15 ページの「ラン管理」](#)を参照してください。

詳細なメトリクスの確認や可視化を実行するには、Sequencing Analysis Viewer (SAV) を使用できます。SAV の詳細については、[Real-Time Analysis サポートサイトページ](#)を参照してください。

ポストランウォッシュが完了する前にランをキャンセルした場合、新しいシーケンスランを開始する前にメンテナンスウォッシュを実施してください。手順については、[109 ページの「メンテナンスウォッシュの実施」](#)を参照してください。

1. [Sequencing] 画面で、または [Runs] 画面の [Active] タブで、ランステータスをモニタリングします。
[Sequencing] 画面には、ラン完了予定時刻が表示されます。正確なラン完了時刻を計算するには、過去 10 回分のランが必要です。
[Runs] 画面には、ランステータスに関する追加情報が表示されます。[Active] タブでは、プロセスの開始時刻と終了時刻に加え、以下のランステータス情報を確認できます。
 - 解析データ転送
 - シーケンスデータ転送
 - 外部ファイル転送
 - 解析待ち
 - 二次解析
2. [Sequencing] 画面または [Runs] 画面で、次のメトリクスをモニタリングします。
 - [% ≥ Q30] : Q スコア 30 以上のベースコールの平均割合
 - [Yield] : ランに対してコールされる塩基の予測数
 - [Total reads PF] : フィルターを通過したペアエンド（該当する場合）リードの数（100 万単位）
3. ランのその他の詳細を確認するには、[Sequencing] 画面で、または [Runs] 画面の [Active] タブでラン名を選択します。
4. ランの完了後、[Sequencing] 画面で、または [Runs] 画面の [Completed] タブでラン名を選択することによりラン結果の詳細を確認できます。
5. 消耗品は装置に入れたままにしておきます。次回のランセットアップ時に促されるまで、取り出さないでください。

サインインおよびサインアウト

30 分間操作しなかった場合、または設定されたサインアウト時間が経過すると、Control Software から自動的にサインアウトされます。以下の手順に従って、サインインと手動でのサインアウトを実行します。

サインイン

サインインするには、サインアウトした状態で画面内の任意の場所をクリックします。装置設定に応じて、サインインの認証情報が異なる場合があります。

システムレベルでは、一度に1名のユーザーのみサインインできますが、装置のサイドごとにユーザーを1人選択して、そのユーザーのランを選択できます。

クラウドに接続している場合、BaseSpace Sequence Hub のユーザー名とパスワードでサインインしてから、ワークグループを選択します。選択したワークグループ内のユーザーによって作成済みの計画されたラン (Planned Run) のみを選択できます。または、[Sign in to local instrument] を選択して、ローカルアカウントを使用してサインインできます。

クラウドに接続していない場合、ローカルアカウントのユーザー名とパスワードでサインインします。

初めてサインインする場合は、管理者によって作成された仮パスワードを入力します。サインインに成功した後、パスワードを変更できます。

サインアウト

自動でのサインアウトが発生する前にサインアウトするには、以下の手順に従います。

[Settings] の [Password policy] 画面で、デフォルトのサインアウト時間を変更できます。手順については、[41 ページの「パスワード設定の編集」](#) を参照してください。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Profile] を選択してから [Sign out] を選択します。
3. サインアウト後、Control Software によって [Profile] メニューが自動的に閉じ、[Sequencing] 画面に戻ります。

使用済みの消耗品のリサイクル

以下の手順に従って、プレロードバッファー、カスタムプライマーバッファー、試薬カートリッジ、ライブラリーチューブストリップ、Lyo インサート、およびバッファーカートリッジをリサイクルします。フローセルはリサイクルできません。

バッファーのリサイクル

以下の手順に従って、プレロードバッファー、カスタムプライマーバッファー、およびバッファーカートリッジをリサイクルします。

プレロードバッファーおよびカスタムプライマーバッファーのリサイクル

プレロードバッファーチューブとカスタムプライマーバッファーチューブはポリプロピレンプラスチック (PP) 製です。プレロードバッファーキャップとカスタムプライマーバッファーキャップは高密度ポリエチレンプラスチック (HDPE) 製です。

1. プレロードバッファーチューブおよびカスタムプライマーバッファーチューブをすすぎ洗います。
2. 各地域の適切な基準に従って、チューブとキャップをリサイクルします。

バッファーカートリッジのリサイクル

バッファーカートリッジのボトルとハンドルは高密度ポリエチレンプラスチック (HDPE) 製です。次の手順に従って、バッファーカートリッジをリサイクルします。

1. バッファーカートリッジを装置から取り出します。
2. ホイルを取り外して廃棄します。
3. 各地域の適切な基準に従って、バッファーカートリッジを空にします。
4. RFID ラベルと RFID を取り外して廃棄します。
5. バッファーカートリッジを平らな面に置き、保持バンド (A) を取り外して、3つのバッファーボトルに分離します。



6. バッファーボトルをすすぎ洗いしてから、各地域の適切な基準に従ってリサイクルします。

試薬カートリッジのリサイクル

装置から試薬カートリッジを取り外してから、以下の手順に従って、ライブラリーチューブストリップ、Lyo インサート、および試薬カートリッジをリサイクルします。

! 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。

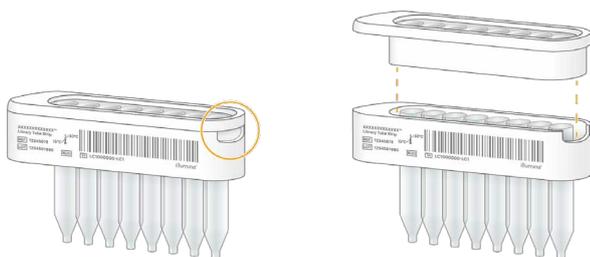
使用済み試薬は化学廃棄物として取り扱い、各地域、国、および現地の適用法に従って廃棄してください。環境、健康、および安全の情報については、jp.support.illumina.com/sds.html に掲載の SDS を参照してください。

ライブラリーチューブストリップとアダプターのリサイクル

ライブラリーチューブストリップはポリプロピレンプラスチック（PP）製です。ライブラリーチューブストリップアダプターは高密度ポリエチレンプラスチック（HDPE）製です。

1. ライブラリーチューブストリップを上向きに押し、試薬カートリッジから分離します。
2. ライブラリーチューブストリップキャップを取り外して廃棄します。

図 13 ライブラリーチューブストリップのキャップの取り外し

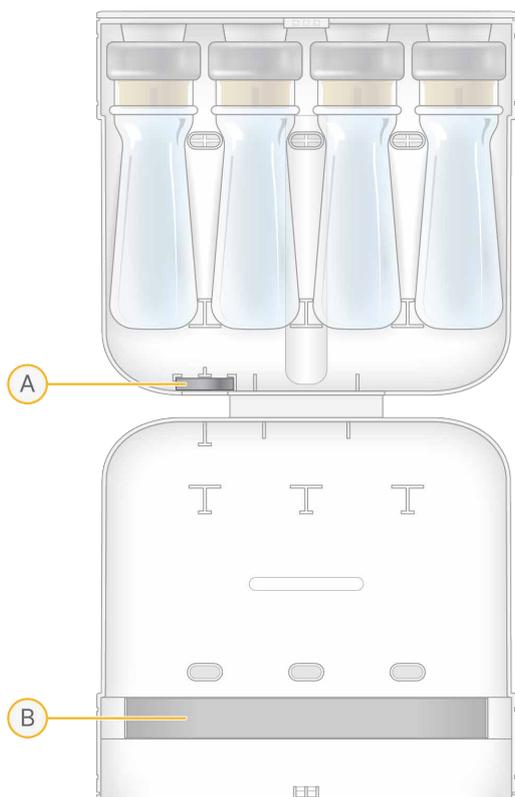


3. ライブラリーチューブストリップの下部にある RFID ラベルと RFID を取り外して廃棄します。
4. ライブラリーチューブストリップをすすぎ洗いしてから、各地域の適切な基準に従ってリサイクルします。
5. 各地域の適切な基準に従って、ライブラリーチューブストリップアダプターをリサイクルします。

Lyo インサートのリサイクル

Lyo インサートカバーはポリプロピレンプラスチック（PP）製です。凍結乾燥試薬のバイアルはリサイクルできません。

1. Lyo インサートのラベルを押し、上向きに押し、Lyo インサートを試薬カートリッジから分離します。
2. Lyo インサートの上部にあるラベルを取り外して、ラベルを廃棄します。
3. Lyo インサートカバーを開けるために、Lyo インサートの側面を押し込みます。
4. 凍結乾燥試薬のバイアルを取り出し、各地域の適切な基準に従ってバイアルを廃棄します。
5. RFID とフォームテープを取り外して廃棄します。



A. RFID

B. フォームテープ

6. 各地域の適切な基準に従って、Lyo インサートカバーをリサイクルします。

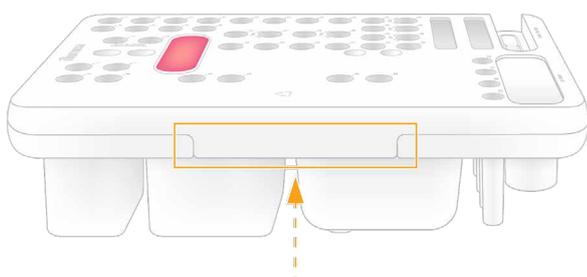
試薬カートリッジ構成品のリサイクル

試薬カートリッジから位置番号 3 のウェル、位置番号 8 のウェル、および SBS ウェルを分離してリサイクルできます。試薬カートリッジカバー、分解した試薬カートリッジ、位置番号 3 のウェル、位置番号 8 のウェル、および 3 番目の SBS ウェルはポリプロピレンプラスチック（PP）製です。1 番目と 2 番目の SBS ウェルはポリエチレンプラスチック（PET）製です。

1. 試薬カートリッジカバーの側面にあるタブを外側に引いてから、持ち上げることで、カバーを取り外します。

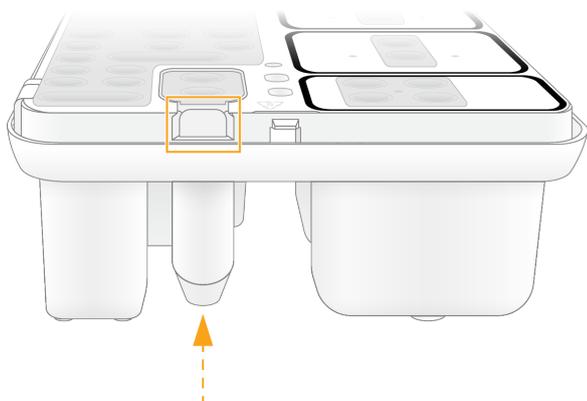
カチッという音により試薬カートリッジカバーが取り外されたことが分かります。

図 14 試薬カートリッジカバーのタブ位置



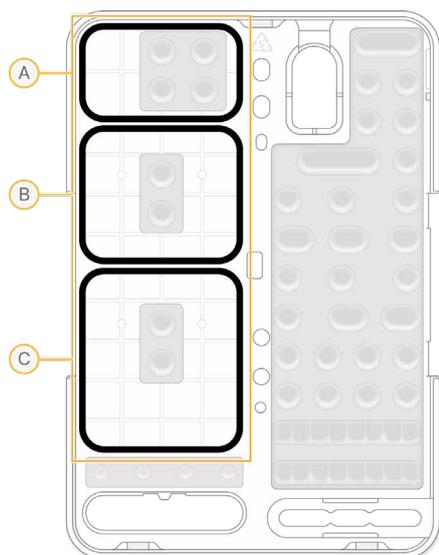
- 位置番号 3 のウェルと位置番号 8 のウェルを試薬カートリッジから取り外すには、タブを押して、ウェルを上向きに押します。

図 15 位置番号 3 のウェルと位置番号 8 のウェルの取り外し



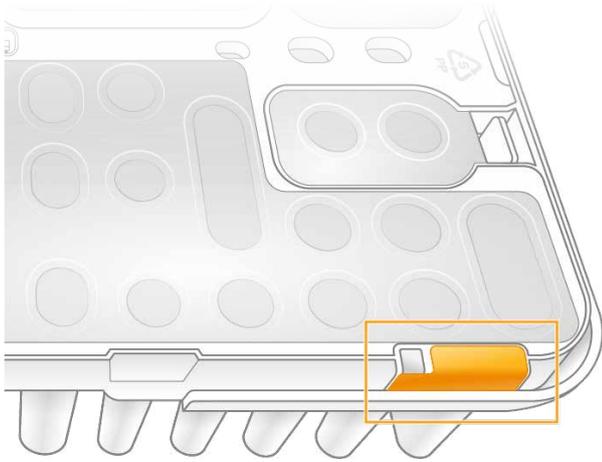
- 各地域の適切な基準に従って、位置番号 3 のウェルと位置番号 8 のウェルをリサイクルします。
- 3 つの SBS ウェルを試薬カートリッジから分離するには、ウェルの側面を押し込んで、ウェルを上向きに押します。

図 16 SBS ウェルの位置



- 1 番目の SBS ウェル：ポリエチレンプラスチック（PET）製
- 2 番目の SBS ウェル：ポリエチレンプラスチック（PET）製
- 3 番目の SBS ウェル：ポリプロピレンプラスチック（PP）製

5. 各地域の適切な基準に従って、SBS ウェルをリサイクルします。
6. すべてのホイル、RFID ラベル、および RFID を取り外して廃棄します。



7. 分解した試薬カートリッジおよびカバーをすすぎ洗いしてから、各地域の適切な基準に従ってリサイクルします。

シーケンスの出力

シーケンスランの開始後、Real-Time Analysis が自動的に開始されます。[Sequencing]画面または[Runs]画面で、RTA4 メトリクスを確認できます。シーケンスおよび二次解析の結果を表示するには、[Runs]画面の[Completed] タブでラン名を選択します。ランの結果には、サンプルレベルおよびランレベルでの詳細なシーケンスメトリクス、二次解析メトリクス、および DRAGEN アプリケーションレポートが含まれています。

指定したデフォルトの出力フォルダーの場所で出力ファイルを見つけることもできます。

Real-Time Analysis

NovaSeq X シリーズでは、装置の Compute Engine (CE) で RTA4 (Real-Time Analysis ソフトウェア) が稼働しています。RTA4 は、カメラで撮影されたイメージからのシグナル強度の抽出、ベースコーリング、ベースコールへのクオリティスコアの割り当て、PhiX へのアライメントと、NovaSeq X Control Software で参照するためのデータを InterOp ファイルの形で出力します。

処理時間を最適化するために、RTA4 はメモリーに情報を格納します。RTA4 が中断された場合、データ処理は再開されず、メモリー内で処理中のランデータはすべて失われます。

RTA4 への入力

RTA4 は、ローカルシステムメモリー内のタイルイメージを使用して処理を行います。ラン情報と処理の指示は Control Software から受け取ります。

RTA4 の出力

各色チャネルのイメージは、タイルとして RTA4 にメモリー内で渡されます。これらのイメージから、RTA4 はクオリティスコア付きの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を出力します。他のすべてのファイルは出力ファイルを補助するものです。

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通過したかどうかを指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。
InterOp ファイル	Sequencing Analysis Viewer で使用されるバイナリーレポートングファイル。InterOp ファイルはラン全体を通じて更新されます。

出力ファイルは下流の解析に使用されます。

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、エラーの起こり易さ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
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所定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、特定のシーケンスシステム構成とケミストリーバージョンの組み合わせで生成されたもので、ランに対して適切で正しいクオリティの予測値を与えられ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 アルゴリズムの変改版に基づいています。

NovaSeq X シリーズの Q テーブルを生成するにあたり、これらの特別な予測機能のクラスタリングに基づいて、ベースコールの 3 つのグループを決定しました。ベースコールのグループ化に続いて、3 グループそれぞれの平均エラー率を経験に基づいて計算し、対応する Q スコアを、そのグループに関連する予測機能とともに Q テーブルに記録しました。そのため、RTA3 では、3 つの Q スコアのみが可能であり、これらの Q スコアはグループの平均エラー率を示します。全体として、これにより、簡単でありながら非常に正確なクオリティスコアリングが実現します。クオリティテーブルの 3 グループは、最低限度のクオリティ (Q15 未満)、中程度のクオリティ (Q20 程度)、高クオリティ (Q30 超) のベースコールに対応し、それぞれ、12、20、37 の具体的なスコアが割り当てられます。また、No Call には、すべて Null スコア 0 が割り当てられます。この Q スコアのレポーティングモデルにより、正確さやパフォーマンスに影響を与えずに、要求されるストレージ容量と帯域幅が削減されます。

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
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つのベースコールファイルに集約されます。この集約されたファイルには、すべてのクラスターの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。</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レイアウトにより、座標があらかじめ定められます。</p> <p>Data\Intensities s_[lane].locs</p>
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>
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、さらにフローセル上のスワスとタイルの数を一覧表示します。RunInfo 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>

シーケンス出力フォルダーの構造

デフォルトで、NovaSeq X Plus システムでは、[Settings] タブで選択した出力フォルダーに出力ファイルが生成されます。report.html ファイルには、各 DRAGEN アプリケーションのサマリーレポートが含まれています。

出力フォルダーの全体構造

出力は、全体として次のような構造に整理されます。

```
/usr/local/illumina/runs/<run_id>/
```

📁 Analysis (二次解析ファイル)

📁 Data (一次解析 BCL ファイル)

📁 InstrumentAnalyticsLogs

📁 InterOp

📁 Logs

📄 RTA.cfg

📄 RTAComplete.txt

📄 CopyComplete.txt

- RunCompletionStatus.xml

- RunInfo.xml

- RunParameters.xml

- SampleSheet.csv

DRAGEN の出力フォルダーの構造

DRAGEN の出力ファイルについては、Analysis フォルダー内の以下の構造を参照してください。これらのファイルは、`/usr/local/illumina/runs/<run_id>/Analysis/<no>/Data` で見つけることができます。動作モードに応じて、出力ファイルの中に追加のメトリクスファイルが含まれる場合があります。

スモールバリエーションコーリングワークフロー用のファイルは、ランセットアップ時にユーザーが [SmallVariantCaller] または [All VariantCallers] を選択した場合に生成されます。

summary

- <x.x.x> (DRAGEN のバージョン)

 - highlevel_summary.json

 - detailed_summary.json

 - workflow_status.json

AggregateReports

- report.html

report_files

reports

BCLConvert

 - report.html

report_files

Demux

 - report.html

report_files

DragenGermline

 - report.html

report_files

DragenEnrichment

 - report.html

report_files

Demux**AggregateReports**

report.html

report_files**samples****sample_name**

sample.html

Demultiplex_Stats.csv

Top_Unknown_Barcodes.csv

Index_Hopping_Counts.csv

IndexMetricsOut.bin

BCLConvert

SampleSheet.csv

AggregateReports

report.html

report_files**samples****sample_name**

sample.html

fastq または ora_fastq

<sample_ID>.S0_L00n_Rm_001.fastq.gz または *.fastq.ora (n=1~8,m=1~2)

Reports

Adapter_Metrics.csv

Quality_Metrics.csv

<sample_id>**fastqc****logs****logs**

DragenGermline`SampleSheet.csv`**AggregateReports**`report.html`**report_files****samples****sample_name**`sample.html`**fastq または ora_fastq**`<sample_ID>.S0_L00n_Rm_001.fastq.gz または *.fastq.ora (n=1~8,m=1~2)`**Reports**`Adapter_Metrics.csv``Quality_Metrics.csv`**<sample_id>****germline_seq**`<sample_ID>.bam (または cram または保存されない)``<sample_ID>.ploidy.vcf.gz``[SmallVariantCaller または AllVariantCallers]<sample_ID>.hard-filtered.vcf.gz``[SmallVariantCaller または AllVariantCallers]<sample_ID>.hard-filtered.gvcf.gz``[AllVariantCallers]<sample_ID>.sv.vcf.gz``[AllVariantCallers]<sample_ID>.cnv.vcf.gz``[AllVariantCallers]<sample_ID>.repeats.vcf.gz``[AllVariantCallers]<sample_ID>.cyp2d6.tsv``[AllVariantCallers]<sample_ID>.roh_metrics.csv``<sample_ID>.mapping_metrics.csv``<sample_ID>.fastqc_metrics.csv``report.html`**logs****logs**

📁 DragenEnrichment

📄 SampleSheet.csv

📄 Bedfile.gz

📁 AggregateReports

📄 report.html

📁 report_files

📁 samples

📁 sample_name

📄 sample.html

📁 fastq または ora_fastq

📄 <sample_ID>.S0_L00n_Rm_001.fastq.gz または *.fastq.ora (n=1~8,m=1~2)

📁 Reports

📄 Adapter_Metrics.csv

📄 Quality_Metrics.csv

📁 <sample_ID>

📁 enrichment_seq

📄 <sample_ID>.bam (または cram または保存されない)

📄 [SmallVariantCaller または AllVariantCallers]<sample_ID>.hard-filtered.vcf.gz

📄 [SmallVariantCaller または AllVariantCallers]<sample_ID>.hard-filtered.gvcf.gz (GermlineOrSomatic が germline である場合のみ)

📄 [AllVariantCallers]<sample_ID>.sv.vcf.gz

📄 [AllVariantCallers]<sample_ID>.cnv.vcf.gz (AuxCnvPanelOfNormalsFile が提供されている場合のみ)

📄 [AllVariantCallers]<sample_ID>.target.counts.gz (AuxCnvPanelOfNormalsFile が提供されている場合のみ)

📄 [AllVariantCallers]<sample_ID>.tn.tsv.gz (AuxCnvPanelOfNormalsFile が提供されている場合のみ)

📄 [AllVariantCallers]<sample_ID>.repeats.vcf.gz

📄 [AllVariantCallers]<sample_ID>.roh_metrics.csv

📄 <sample_ID>.mapping_metrics.csv

📄 <sample_ID>.fastqc_metrics.csv

📄 report.html

- 📁 logs
- 📁 logs
- 📁 DragenRNA
 - 📄 SampleSheet.csv
 - 📁 AggregateReports
 - 📄 report.html
 - 📁 report_files
 - 📁 samples
 - 📁 sample_name
 - 📄 sample.html
- 📁 fastq または ora_fastq
 - 📄 <sample_ID>.S0_L00n_Rm_001.fastq.gz または *.fastq.ora (n=1~8,m=1~2)
- 📁 Reports
 - 📄 Adapter_Metrics.csv
 - 📄 Quality_Metrics.csv
- 📁 <sample_id>
 - 📁 rna_seq
 - 📄 <sample_ID>.bam (または cram または保存されない)
 - 📄 [FullPipeline]<sample_ID>.fusion_candidates.vcf.gz
 - 📄 [FullPipeline]<sample_ID>.quant.genes.sf
 - 📄 [FullPipeline]<sample_ID>.quant.sf
 - 📄 <sample_ID>.mapping_metrics.csv
 - 📄 <sample_ID>.fastqc_metrics.csv
 - 📄 report.html
 - 📁 logs
 - 📁 logs
 - 📁 DifferentialExpression (RnaDifferentialExpression が true に設定されている場合のみ)
 - 📁 Comparison1
 - 📁 Comparison2
 - 📁 RunInstrumentAnalyticsMetrics
 - 📄 Secondary_Analysis_Complete.txt
 - 📁 logs

NovaSeq X Plus システムの二次解析レポート

ランの結果を表示するには、[Sequencing complete] 画面でラン名を選択します。二次解析の結果を表示するには、[Run details] 画面の下部に移動してから、[View DRAGEN report] を選択します。または、グローバルメニューを使用して [Runs] 画面に移動し、完了したランを選択します。

DRAGEN のレポート結果は次のレベルで表示できます。

- ラン [Run] : ランサマリーは、デマルチプレックスレポートを含むワークフローレポートにリンクしていて、以下の情報の概要を提供します。
 - バージョン番号
 - サンプル総数
 - 完了したサンプルの数
 - エラー数
- ワークフロー [Workflow] : ワークフローレポートは、DRAGEN アプリケーションに含まれているすべてのサンプル間のデータをまとめたもので、個々のサンプルレポートにリンクしています。
- サンプル [Sample] : サンプルレポートには、各サンプルのリード 1 およびリード 2 に対する詳細なメトリクスが含まれています。

ワークフローレベルおよびサンプルレベルで提供されるメトリクスは、レポートによって異なります。

デマルチプレックスレポート

デマルチプレックスメトリクスに関するレポートが、ランごとに自動的に作成されます。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の数に関する情報が含まれています。サンプルに明確に関連付けられていないリードは未確定 [Undetermined] に分類されます。

レポートタブ	内容説明
Demultiplex Stats	<p>ラン内のサンプルに関する概要情報とマッチング統計：</p> <ul style="list-style-type: none"> • [Lane]：サンプルがシーケンスされたフローセル上のレーン • [Sample ID]：サンプルシートから得られるサンプル ID。リードがどのサンプルにも対応していない場合、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得られるインデックスリード 1 とインデックスリード 2 をハイフンでつないだもの。リードがどのサンプルにも対応していない場合、このフィールドには [undetermined] と表示されます。 • [Reads]：リードの数 • [Matching]：インデックスに完全にマッチしているリードの数 • [One Mismatch]：インデックスと 1 つミスマッチがあるリードの数 • [Two Mismatch]：インデックスと 2 つミスマッチがあるリードの数 • [% Reads]：全リードのうちサンプルに割り当てられた割合 • [% Matching]：インデックスにミスマッチがないサンプルリードの割合 • [% One Mismatch]：インデックスに 1 つミスマッチがあるサンプルリードの割合 • [% Two Mismatch]：インデックスに 2 つミスマッチがあるサンプルリードの割合
Top Unknown Barcodes	<p>リードの数、不明なバーコードが含まれるサンプルリードの割合、および全リードのうちサンプルに割り当てられた割合を明示するインデックスアダプターシーケンスのリスト。</p> <p>リード数が最も多いインデックスから最も少ないインデックスへと降順に列挙されます。</p>
Index Hopping Counts	<p>リードの数、正しくない割り当てが含まれるサンプルリードの割合、および全リードのうちサンプルに割り当てられた割合を含むサンプルのリスト。</p>

DRAGEN BCL Convert レポート

DRAGEN BCL Convert レポートには、以下の情報が含まれています。

レポートタブ	メトリクス	内容説明
Summary	General Statistics	ワークフローに含まれる各サンプルの概要情報： <ul style="list-style-type: none"> • [Input Reads]：入力リードの数 • [Read Length]：推定リード長 • [Q30 Bases R1]：リード1で Phred クオリティスコアが 30 以上の塩基の数 • [Q30 Bases R2]：リード2で Phred クオリティスコアが 30 以上の塩基の数
	Mean Base Quality by Position	すべてのサンプルに関する各リード位置での平均 Phred スコア。
	Read Length Distribution	ランにおいてシーケンスされた各フラグメントの長さ (塩基対単位) に対するリードカウント。
	Read Quality Distribution	ランにおいてサンプルにマッピングされた塩基に割り当てられた各 Phred スコアに対するリードカウント。
	%GC Content	シーケンスされたサンプルに含まれるグアニン塩基またはシトシン塩基の割合。各サンプルのデータに加え、理論上の GC 割合データがグラフに表示されます。
	Ambiguous Base Content by Position	各リード位置における、あいまいな塩基の割合。この分布は、できるだけ 0 に近い必要があります。
	Adapter Content by Position	各塩基ごとのアダプター配列の割合。

DRAGEN Enrichment レポート

DRAGEN Enrichment レポートには、以下の情報が含まれています。

レポートタブ	メトリクス	内容説明
Enrichment	Read Level Enrichment	<p>各サンプルについてのリード濃縮情報：</p> <ul style="list-style-type: none"> • [Total Aligned Reads]：アライメントされたリードの総数 • [Percent Aligned Reads]：アライメントされたリードの割合 • [Targeted Aligned Reads]：標的領域にアライメントされたリードの数 • [Read Enrichment]：アライメントされた合計リード数のうち標的領域のリード数の割合 • [Padded Target Aligned Reads]：パディングした標的領域にアライメントされたリードの数 • [Padded Read Enrichment]：アライメントされた合計リードのうちパディングした標的領域にアライメントされたリードの割合
	Base Level Enrichment	<p>以下のメトリクスを含む、各サンプルについての塩基濃縮情報：</p> <ul style="list-style-type: none"> • [Total Aligned Bases]：アライメントされた塩基の総数 • [Percent Aligned Bases]：アライメントされた塩基の割合 • [Targeted Aligned Bases]：標的領域にユニークにアライメントされた塩基の数 • [Base Enrichment]：アライメントされた合計塩基数のうち標的領域の塩基数の割合 • [Padded Target Aligned Bases]：パディングした標的領域にアライメントされた塩基の数 • [Padded Base Enrichment]：アライメントされた合計塩基のうちパディングした標的領域にアライメントされた塩基の割合
	Total Aligned Bases	各サンプルインデックスにおけるアライメントされた塩基の総数。
Trimmer	Trimmed Reads	<p>入力リードの総数とトリミングされたリードの総数。トリミングされたリードは、以下のグループに分類されます。</p> <ul style="list-style-type: none"> • 固定長トリミングされたリード • ポリ G トリミングされたリード • クオリティトリミングされたリード • アダプタートリミングされたリード • バイサルファイトトリミングされたリード • N 塩基トリミングされたリード • 最小長トリミングされたリード • カットエンドトリミングされたリード <p>トリマーが無効の場合、レポート値は N/A となり、トリマーが有効で適用されていない場合はゼロになります。</p>

レポートタブ	メトリクス	内容説明
DRAGEN-FastQC	Mean Base Quality by Position	すべてのサンプルに関する各リード位置での平均 Phred スコア。
	Read Length Distribution	ランにおいてシーケンスされた各フラグメントの長さ（塩基対単位）に対するリードカウント。
	Read Quality Distribution	ランにおいてサンプルにマッピングされた塩基に割り当てられた各 Phred スコアに対するリードカウント。
	%GC Content	シーケンスされたサンプルに含まれるグアニン塩基またはシトシン塩基の割合。各サンプルのデータに加え、理論上の GC 割合データがグラフに表示されます。
	Ambiguous Base Content by Position	各リード位置における、あいまいな塩基の割合。この分布は、できるだけ 0 に近い必要があります。
	Adapter Content by Position	各塩基ごとのアダプター配列の割合。
	Mean Base Quality by Position	すべてのサンプルに関する各リード位置での平均 Phred スコア。

レポートタブ	メトリクス	内容説明
QC	QC Summary	以下のメトリクスを含む、各サンプルについての品質管理情報： <ul style="list-style-type: none"> • [% Contam]：他のヒトソースに由来する可能性があるリードの推定割合 • [Median Exon Coverage]：エクソンについての常染色体カバレッジの中央値 • [PCT Exon 1000x]：1000x カバレッジを超えるエクソンの割合
	Extended QC Summary	以下のメトリクスを含む、各サンプルについての追加の品質管理情報： <ul style="list-style-type: none"> • [Total Input Reads]：入力リードの総数 • [PCT Chimeric Reads]：キメラリードの割合 • [PCT Exon 500X]：500x カバレッジを超えるエクソンの割合 • [PCT Exon 1500X]：1500x カバレッジを超えるエクソンの割合 • [PCT Aligned Reads]：アライメントされたリードの割合 • [Median Insert Size]：インサートサイズの中央値
	Targeted Coverage QC Metrics	以下のメトリクスを含む、各サンプルについてのターゲットカバレッジ品質管理情報： <ul style="list-style-type: none"> • [Median Target Coverage]：常染色体カバレッジの中央値 • [Mean Target Coverage]：常染色体カバレッジの平均値 • [PCT Target 0.4X Mean]：リード深度がターゲット領域平均値の 40% を超える塩基の割合 • [PCT Target 500X]：500x カバレッジ以上のターゲット領域の割合 • [PCT Target 1000X]：1000x カバレッジ以上のターゲット領域の割合 • [PCT Target 1500X]：1500x カバレッジ以上のターゲット領域の割合
Mapping	Fragment Length Summary	各サンプルにおけるフラグメントのインサートサイズの平均値と中央値。各サンプルのインサートサイズの標準偏差が含まれます。
	Fragment Length Medians	各サンプルインデックスのフラグメント長の中央値。
	Fragment Length	ランにおいてシーケンスされたフラグメントの長さ（塩基対単位）。
	Duplicates	アライメントされた重複リードの数と、アライメントされた全リードのうち重複しているリードの割合。

レポートタブ	メトリクス	内容説明
Coverage	Coverage Summary	以下のメトリクスを含む、サンプルカバレッジの概要： <ul style="list-style-type: none"> • [Mean Region Coverage Depth]：アライメントカバレッジの平均値 • [Uniformity of Coverage]：リード深度がエクソン平均値の20%を超える塩基の割合 • [Target Coverage at 1X]：1x カバレッジ以上のエクソンの割合 • [Target Coverage at 10X]：10x カバレッジ以上のエクソンの割合 • [Target Coverage at 20X]：20x カバレッジ以上のエクソンの割合 • [Target Coverage at 50X]：50x カバレッジ以上のエクソンの割合
	Mean Region Coverage Depth	各サンプルインデックスの QC カバレッジ領域にわたるアライメントカバレッジの平均値。
	Uniformity of Coverage	各サンプルインデックスの QC カバレッジ領域にわたるカバレッジの均一性 (PCT > 0.2* 平均値)。
	Targeted Coverage Distribution	各サンプルにおいて特定のリード数でカバーされる塩基の深度と割合。
	Minimum Targeted Coverage Distribution	各サンプルにおいて特定のリード数以上でカバーされる塩基の深度と割合。
Variants	SNVs	各サンプルの以下の情報： <ul style="list-style-type: none"> • [SNVs]：SNV の総数 • [SNV Het/Hom Ratio]：ホモ接合性 SNV に対するヘテロ接合性 SNV の比率 • [SNV Ts/Tv Ratio]：SNV 中の塩基転換に対する塩基転位の比率
	Number of SNVs Passing	各サンプルインデックスにおけるパスした SNV の数。
	Indels	各サンプルの以下の情報： <ul style="list-style-type: none"> • [Indels]：Indel の数 • [Insertions (Het)]：両方のアレルが挿入であるがホモ接合性でないバリエーションの数 • [Deletions (Het)]：ホモ接合欠失を含むバリエーションの数 • [Indel Het/Hom Ratio]：ホモ接合に対するヘテロ接合の比率

DRAGEN Germline

DRAGEN Germline レポートには、以下の情報が含まれています。

レポートタブ	メトリクス	内容説明
Summary	General Statistics	<p>ワークフローに含まれる各サンプルの概要情報：</p> <ul style="list-style-type: none"> • [Sex]：サンプルの性別 • [Depth]：ゲノム全体のアライメントカバレッジの平均値 • [% >20x]：20% カバレッジを超えるゲノムの割合 • [% Contam]：他のヒトソースに由来する可能性があるリードの推定割合 • [Variants]：スモールバリアントの総数 • [Input Reads]：入力リードの総数 • [% Unmap]：マッピングされていないリードの割合 • [% Dup]：重複していると判定されたリードの割合 • [% Prop Pair]：適切にペアが作られたリードの割合 • [Med IS]：インサートサイズの中央値
	DRAGEN Modules	QC モジュールとトリミングモジュールが有効かどうかと、各サンプルの SNV、SV、および CNV の数が示されます。
	DRAGEN Specialized Callers	<p>以下の特殊なコーラーが有効かどうかを示します。</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aneuploidy • Zygoty • HLA • Repeat expansions • SMA コーラー • GBA コーラー • CYP2D6 コーラー
	DRAGEN Features	<p>各サンプルで以下の DRAGEN 機能が有効かどうかを示します。</p> <ul style="list-style-type: none"> • ターゲットアリルコーリング • PGx 用のスターアリルコーリング
Trimmer	Trimmed Reads	<p>入力リードの総数とトリミングされたリードの総数。トリミングされたリードは、以下のグループに分類されます。</p> <ul style="list-style-type: none"> • 固定長トリミングされたリード • ポリ G トリミングされたリード • クオリティトリミングされたリード • アダプタートリミングされたリード • バイサルファイトトリミングされたリード • N 塩基トリミングされたリード • 最小長トリミングされたリード • カットエンドトリミングされたリード <p>トリマーが無効の場合、レポート値は N/A となり、トリマーが有効で適用されていない場合はゼロになります。</p>

レポートタブ	メトリクス	内容説明
DRAGEN-FastQC	Means Base Quality by Position	すべてのサンプルに関する各リード位置での平均 Phred スコア。
	Read Length Distribution	ランにおいてシーケンスされた各フラグメントの長さ（塩基対単位）に対するリードカウント。
	Read Quality Distribution	ランにおいてサンプルにマッピングされた塩基に割り当てられた各 Phred スコアに対するリードカウント。
	%GC Content	シーケンスされたサンプルに含まれるグアニン塩基またはシトシン塩基の割合。各サンプルのデータに加え、理論上の GC 割合データがグラフに表示されます。
	Ambiguous Base Content by Position	各リード位置における、あいまいな塩基の割合。この分布は、できるだけ 0 に近い必要があります。
	Adapter Content by Position	各塩基ごとのアダプター配列の割合。
Mapping	Mapping Metrics	ワークフローの各サンプルに関する以下の情報を含むマッピングメトリクスの概要： <ul style="list-style-type: none"> • [Total Input Reads]：入力リードの総数 • [Number of Unique Reads]：ユニークリードの総数 • [QC-Failed Read]：1 つ以上のクオリティチェックに失敗したランの総数 • [Mapped Reads]：マッピングされたリードの総数 • [Total Bases]：入力塩基の総数 • [Mapped Bases R1]：マッピングされたリード 1 の塩基の総数 • [Q30 Bases]：Phred クオリティスコアが 30 以上の塩基の総数 • [% Contam]：他のヒトソースに由来する可能性があるリードの推定割合
	Fragment Length	ランにおいてシーケンスされたフラグメントの長さ（塩基対単位）。
	Mapped Coverage to Primary Contigs	各プライマリーコンティグの平均カバレッジ。
	Mapped Coverage to Unplaced and Alternate Contigs	それぞれの未配置コンティグおよび代替コンティグの平均カバレッジ。

レポートタブ	メトリクス	内容説明
Coverage	Coverage Metrics	ワークフローの各サンプルに関する以下の情報を含むカバレッジメトリクスの概要： <ul style="list-style-type: none"> • [Aligned Reads]：アライメントされたリードの総数 • [Average Coverage]：ゲノム全体のアライメントカバレッジの平均値 • [Uniformity of Coverage]：リード深度がゲノム平均値の 20% を超える塩基の割合 • [Mean/Median Ratio]：常染色体カバレッジの中央値に対する常染色体カバレッジの平均値の比率 • [% >=1x]：1x カバレッジ以上のゲノムの割合 • [% >=10x]：10x カバレッジ以上のゲノムの割合 • [% >=20x]：20x カバレッジ以上のゲノムの割合 • [% >=50x]：50x カバレッジ以上のゲノムの割合 • [% >=100x]：100x カバレッジ以上のゲノムの割合
	WGS Coverage Distribution	各サンプルにおいて深度別にマッピング後、X のリードでカバーされる塩基の割合。
	Minimum WGS Coverage Distribution	各サンプルにおいて深度別にマッピング後、少なくとも X 以上のリードでカバーされる塩基の割合。
Aneuploidy	Aneuploidy Results (chr1-12)	1～12 番染色体の数的異常の結果。
	Aneuploidy Results (chr13-22,X,Y)	13～22 番染色体、X 染色体、Y 染色体の数的異常の結果。
Variants	Variant Statistics	以下のバリエーション情報の概要： <ul style="list-style-type: none"> • [Variants]：バリエーションの総数 • [Multiallelic]：3 つ以上のアリルが観察される場所の総数 • [SNP]：一塩基多型 (SNP) の総数 • [Ti/Tv]：コールされたバリエーション中の塩基転換に対する塩基転位の比率 • [Het/Hom Ratio]：ホモ接合性バリエーションに対するヘテロ接合性バリエーションの比率 • [Callability]：通過するジェノタイプコールを持つ常染色体非 N リファレンス位置の割合
	Structural Variant Metrics	構造バリエーション (SV)、欠失、挿入、重複、およびブレイクエンドペアの総数。
	Copy Number Variant Metrics	全カバレッジ均一性、重複の総数、および欠失の総数。カバレッジ均一性は、隣接領域のカバレッジレベルから計算される自己相関メトリクスです。値はライブラリーによって異なりますが、Germline WGS データでは一般的に 0.4 未満である必要があります。

レポートタブ	メトリクス	内容説明
Zygosity	Regions of Homozygosity (chr1-12)	レポートのこのセクションに記載される値は、1～12番染色体のホモ接合性 SNV の数に対するヘテロ接合性 SNV の数の比率です。0.2 未満の値は、ホモ接合性領域である可能性が高いことを示します。
	Regions of Homozygosity (chr13-22,X,Y)	レポートのこのセクションに記載される値は、13～22番染色体、X 染色体、Y 染色体のホモ接合性 SNV の数に対するヘテロ接合性 SNV の数の比率です。0.2 未満の値は、ホモ接合性領域である可能性が高いことを示します。
HLA	HLA Typer Results	HLA-A、HLA-B、および HLA-C アリルの 1 番目と 2 番目の結果。 <ul style="list-style-type: none"> • [A1]：HLA-A の 1 番目のアリルの結果 • [A2]：HLA-A の 2 番目のアリルの結果 • [B1]：HLA-B の 1 番目のアリルの結果 • [B2]：HLA-B の 2 番目のアリルの結果 • [C1]：HLA-C の 1 番目のアリルの結果 • [C2]：HLA-C の 2 番目のアリルの結果
Targeted Callers	Repeat Expansion	各遺伝子の長いアリルについてリピート伸長を特定します。
	Targeted Caller Summary	FXN のリピート数、FMR1 のリピート数、SMN または GBA 変異体が存在したかどうかの表示。フォワードスラッシュで区切られた値は、両方のアリルでのリピート数を示します。
	Common Repeat Expansions	特定の遺伝子での指定されたモチーフのリピート単位の数。フォワードスラッシュで区切られた値は、両方のアリルでのリピート数を示します。 <ul style="list-style-type: none"> • [AR]：AR 内の GCA リピートの数 • [ATN1]：ATN1 内の CAG リピートの数 • [C9ORF72]：C9ORF72 内の GGGGCC リピートの数 • [DMPK]：DMPK 内の CTG リピートの数 • [FMR1]：FMR1 内の CGG リピートの数 • [FXN]：FXN 内の GAA リピートの数 • [FXN]：FXN 内のアラニンリピートの数 • [HTT]：HTT 内の CAG リピートの数 • [HTT]：HTT 内の CCG リピートの数

レポートタブ	メトリクス	内容説明
	Ataxia Repeat Expansions	<p>特定の遺伝子での指定されたモチーフのリピート単位の数。フォワードスラッシュで区切られた値は、両方のアレルでのリピート数を示します。</p> <ul style="list-style-type: none"> • [ATXN1]：ATXN1 内の CAG リピートの数 • [ATXN2]：ATXN2 内の CAG リピートの数 • [ATXN3]：ATXN3 内の CAG リピートの数 • [ATXN7]：ATXN7 内の CAG リピートの数 • [ATXN7]：ATXN7 内の GCC リピートの数 • [ATXN10]：ATXN10 内の ATTCT リピートの数 • [ATXN8OS]：ATXN8OS 内の CTG リピートの数
	Rare Repeat Expansions (A-M)	<p>特定の遺伝子での指定されたモチーフのリピート単位の数。フォワードスラッシュで区切られた値は、両方のアレルでのリピート数を示します。</p> <ul style="list-style-type: none"> • [AFF2]：AFF2 内の GCC リピートの数 • [CACNA1A]：CACNA1A 内の CAG リピートの数 • [CBL]：CBL 内の CGG リピートの数 • [CNBP]：CNBP 内の CCTG リピートの数 • [CSTB]：CSTB 内の CCCC GCCCGCG リピートの数 • [DIP2B]：DIP2B 内の GGC リピートの数 • [GLS]：GLS 内の GCA リピートの数 • [JPH3]：JPH3 内の CTG リピートの数
	Rare Repeat Expansions (N-Z)	<p>特定の遺伝子での指定されたモチーフのリピート単位の数。フォワードスラッシュで区切られた値は、両方のアレルでのリピート数を示します。</p> <ul style="list-style-type: none"> • [NIPA1]：NIPA1 内のアラニンリピートの数 • [NOP56]：NOP56 内の GGCCTG リピートの数 • [NOP56]：NOP56 内の CGCCTG リピートの数 • [NOTCH2NL]：NOTCH2NL 内の GGC リピートの数 • [PABPN1]：PABPN1 内のアラニンリピートの数 • [PHOX2B]：PHOX2B 内のアラニンリピートの数 • [PPP2R2B]：PPP2R2B 内の CTG リピートの数 • [RFC1]：RFC1 内のアラニンリピートの数 • [TBP]：TBP 内の GCA リピートの数 • [TCF4]：TCF4 内の CAG リピートの数
PGx	Pharmacogenetics	CYP2D6 遺伝型と、サンプルに対して CYP2D6 フィルターが成功したか失敗したか。

DRAGEN RNA

DRAGEN RNA レポートには、以下の情報が含まれています。

レポートタブ	メトリクス	内容説明
Summary	General Statistics	<p>ワークフローに含まれる各サンプルの概要情報：</p> <ul style="list-style-type: none"> [Input Reads]：入力リードの総数 [Read Length]：推定リード長 [Abundance]：有益でないリードの数 [% Unmapped]：マッピングされていないリードの割合 [CV Coverage]：最も多く現れたトランスクリプト 1,000 個のカバレッジ変動係数の中央値。理想的な値はゼロです。 [% Strand Match]：期待される向きに一致したストランドの割合 [% Strand Mismatch]：期待される向きに一致しなかったストランドの割合
Trimmer	Trimmer Reads	<p>入力リードの総数とトリミングされたリードの総数。トリミングされたリードは、以下のグループに分類されます。</p> <ul style="list-style-type: none"> 固定長トリミングされたリード ポリ G トリミングされたリード クオリティトリミングされたリード アダプタートリミングされたリード バイサルファイトリミングされたリード N 塩基トリミングされたリード 最小長トリミングされたリード カットエンドトリミングされたリード <p>トリマーが無効の場合、レポート値は N/A となり、トリマーが有効で適用されていない場合はゼロになります。</p>
DRAGEN-FastQC	Mean Base Quality by Position	すべてのサンプルに関する各リード位置での平均 Phred スコア。
	Run Length Distribution	ランにおいてシーケンスされた各フラグメントの長さ（塩基対単位）に対するリードカウント。
	Read Quality Distribution	ランにおいてサンプルにマッピングされた塩基に割り当てられた各 Phred スコアに対するリードカウント。
	%GC Content	シーケンスされたサンプルに含まれるグアニン塩基またはシトシン塩基の割合。各サンプルのデータに加え、理論上の GC 割合データがグラフに表示されます。
	Ambiguous Base Content by Position	各リード位置における、あいまいな塩基の割合。この分布は、できるだけ 0 に近い必要があります。
Adapter Content by Position	各塩基ごとのアダプター配列の割合。	

レポートタブ	メトリクス	内容説明
Mapping	Mapping Metrics	<p>ワークフローの各サンプルに関する以下の情報を含むマッピングメトリクスの概要：</p> <ul style="list-style-type: none"> • [Total Input Reads]：入力リードの総数 • [Number of Unique Reads]：ユニークリードの総数 • [QC-Failed Read]：1つ以上のクオリティチェックに失敗したランの総数 • [Mapped Reads]：マッピングされたリードの総数 • [Total Bases]：入力塩基の総数 • [Mapped Bases R1]：マッピングされたリード1の塩基の総数 • [Q30 Bases]：Phred クオリティスコアが 30 以上の塩基の総数 • [% Contam]：他のヒトソースに由来する可能性があるリードの推定割合
	Insert Length Distribution	ランにおいてシーケンスされたフラグメントの長さ (塩基対単位)。
Regional Coverage	Coverage Uniformity Metrics	<p>各サンプルについて、レポートのこのセクションには以下の情報が含まれています。</p> <ul style="list-style-type: none"> • [Median CV]：トランスクリプトに沿ったカバレッジの変動係数 • [Reads Aligned to Correct Strand]：順鎖のトランスクリプトに一致するリードペア
Gene Coverage	Gene Coverage	<p>次のカテゴリーに分類される、各サンプルの遺伝子カバレッジに関するデータ：</p> <ul style="list-style-type: none"> • [≥1x]：1x カバレッジ以上の遺伝子の数 • [≥10x]：10x カバレッジ以上の遺伝子の数 • [≥30x]：30x カバレッジ以上の遺伝子の数 • [≥100x]：100x カバレッジ以上の遺伝子の数
	Transcript Alignment	<p>以下のカテゴリーに該当するフラグメントの割合：</p> <ul style="list-style-type: none"> • [Transcript fragments]：アノテーションが付与された1つ以上のトランスクリプトにマッピングされるリードペア • [Unknown fragments]：遺伝子のエクソンとの重複を持つが、どのトランスクリプトとも一致しないリードペア • [Intron fragments]：遺伝子との重複を持つがエクソンとの重複を持たないリードペア • [Intergenic fragments]：どの遺伝子とも重複を持たないリードペア
	Transcript Coverage	トランスクリプトに沿って正規化された位置に関連してマッピングカバレッジを視覚化。

DRAGEN 二次解析出力ファイル

本セクションでは、出力ファイルについての情報など各 DRAGEN アプリケーションの詳細について説明します。DRAGEN は、各アプリケーションに固有のファイルを生成することに加え、解析から得られたメトリクスを <sample_name>.metrics.json ファイルと [87 ページの「NovaSeq X Plus システムの二次解析レポート」](#) で説明したレポートの中に提供します。DRAGEN の詳細については、[Illumina DRAGEN Bio-IT Platform サポートサイトページ](#)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ています。[Proactive, Run Monitoring and Storage] を選択した場合、BAM ファイルは Illumina DRAGEN Bio-IT Platform にアップロードされません。

DRAGEN Enrichment

DRAGEN Enrichment アプリケーションは、以下の機能をサポートしています。

- 入力 BCL ファイルの圧縮の解凍
- FASTQ 変換
- ORA または Gzip 形式への FASTQ の圧縮
- マッピング / アライメント（並べ替えと重複マーキングを含む）
- BAM/CRAM の圧縮（オプション）
- バリアントコーリング

VariantCallingMode パラメーターを使用する場合、パイプラインは、以下のバリアントコーラーに対するアルゴリズムをサポートします。

- なし
- スモールバリアントコーラー
- すべてのバリアントコーラー：
 - スモール
 - 構造
 - コピー数バリアント（ヒト、装置上のリファレンスゲノムの場合）

以下の入力が必要で。

- NovaSeq X Plus システム装置から生成された BCL データ
- サンプルシート
- BedFile（バリアントコーリングモードが「なし」ではない場合）
- GenomeOrSomatic

以下の入力はオプションです。

- AuxBaselineNoiseFile
- AuxCnvPanelOfNormalsFile（バリアントコーリングモードが AllVariantCallers の場合）

DRAGEN は、ノイズベースラインファイルの入力を使用して体細胞モードのパフォーマンスを向上させるオプションをサポートしています。CNV の場合、正常サンプルのパネルファイルが必要です。

DRAGEN Enrichment 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 / アライメント	BAM または CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.bam または • <sample_name>.cram
スモールバリエントコーリング	VCF および gVCF*	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz • <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz
構造バリエントコーリング	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.sv.vcf.gz
コピー数バリエント	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.cnv.vcf.gz
メトリクス生成	CSV	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.metrics.json • <sample_name>.qc_metrics.csv

* gVCF 出力ファイルは生殖細胞系列モードでのみ利用できます。

DRAGEN Germline

DRAGEN Germline アプリケーションは、以下の機能をサポートしています。

- 入力 BCL ファイルの圧縮の解凍
- FASTQ 変換
- ORA または Gzip 形式への FASTQ の圧縮
- マッピング / アライメント（並べ替えと重複マーキングを含む）
- BAM/CRAM の圧縮（オプション）
- バリエントコーリング

パイプラインは、以下のバリエントコーラーに対するアルゴリズムをサポートします。

- なし
- スモールバリエントコーラー
- すべてのバリエントコーラー：
 - 構造
 - コピー数バリエント（ヒト、装置上のリファレンスゲノムの場合）
 - リpeat伸長（ヒト、装置上のリファレンスゲノムの場合）
 - ホモ接合性領域（ヒト、装置上のリファレンスゲノムの場合）
 - CYP2D6 検出

以下の入力が必要です。

- NovaSeq X Plus システム装置から生成された BCL データ
- サンプルシート

DRAGEN Germline 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	出力要件
マッピング / アライメント	BAM または CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.bam または • <sample_name>.cram 	該当なし
スモールバリエーションコーリング	VCF および gVCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.hard-filtered.gvcf.gz • <sample_name>.hard-filtered.vcf.gz 	該当なし
構造バリエーションコーラー	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.sv.vcf.gz 	ペアエンドリードの場合のみ生成
コピー数バリエーション	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.cnv.vcf.gz 	ヒトゲノムのみ
リピート伸長	VCF	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.repeats.vcf.gz 	ヒトゲノムのみ
ホモ接合性領域	CSV および BED	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.roh_metrics.csv • <sample_name>.roh.bed 	ヒトゲノムのみ
CYP2D6 検出	TSV	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.cyp2d6.tsv 	ヒトゲノムのみ
メトリクス生成	CSV	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.metrics.json • <sample_name>.qc_metrics.csv 	該当なし

DRAGEN RNA

DRAGEN RNA アプリケーションは、以下の機能をサポートしています。

- 入力 BCL ファイルの圧縮の解凍
- FASTQ の生成
- FASTQ の圧縮 (ORA または Gzip)
- マッピング / アライメント (並べ替えを含む)
- (オプション) BAM/CRAM の圧縮
- (FullPipeline) 遺伝子融合検出
- (FullPipeline) 全トランスクリプトーム遺伝子発現 (トランスクリプトの定量)

発現差異もオプションでサポートされます。

以下の入力が必要です。

- NovaSeq X Plus システム装置から生成された BCL データ
- サンプルシート

次の入力はオプションです。

- RnaGeneAnnotationFile

RnaGeneAnnotationFile は、イルミナ提供の各ヒトリファレンスゲノムを使用してパッケージ化されます。お客様がランセットアップ時に RnaGeneAnnotationFile を提供する場合、ゲノムにパッケージ化されたファイルの代わりに、このファイルが使用されます。RnaGeneAnnotationFile が、イルミナ提供のゲノムとともに利用できない場合、またはお客様によって直接提供されなかった場合、遺伝子融合手順と RNA 定量手順は省略されます。発現差異が有効の場合、RnaGeneAnnotationFile を提供する必要があります。

DRAGEN RNA 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 / アライメント	BAM または CRAM	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.bam または • <sample_name>.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"> • <sample_name>.fusion_candidates.preliminary • <sample_name>.fusion_candidates.final 	<ul style="list-style-type: none"> • フィルター適用前の融合候補 • フィルター適用後の融合候補
トランスクリプトの定量	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"> • 遺伝子レベルでのトランスクリプトの定量結果 • トランスクリプトの定量のすべての結果
メトリクス	JSON、CSV	<ul style="list-style-type: none"> • <sample_name>.metrics.json • <sample_name>.qc_metrics.csv 	<ul style="list-style-type: none"> • 遺伝子レベルでのトランスクリプトの定量結果 • トランスクリプトの定量のすべての結果
発現差異	PNG	発現差異の出力ファイルに関する下記の表を参照してください。	出力ファイルを生成するには、サンプルシートで比較を設定する必要があります。

発現差異が有効の場合、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.genes.counts.csv	コントロールグループと比較グループに含まれる各サンプルの各遺伝子にマッピングされるリードの数が記載されます。
Control_vs_Comparison.genes.res.csv	各遺伝子の平均発現量、log2（倍率変化）、log2（倍率変化）の標準偏差、p 値、調整された p 値、および発現状況を示す、DESeq2 の結果が含まれています。
Control_vs_Comparison.genes.rlog.csv	DESeq2 によって計算された、正規化済みで対数変換済みのカウントが含まれています。
Control_vs_Comparison.differential_expression_metrics.csv	発現差解析メトリクスが含まれています。
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で、調整された p 値が -0.05 未満となる、発現差のある遺伝子の発現ヒートマップを示すプロット。発現差のある遺伝子が 30 個を超える場合、これらの遺伝子のうち上位 30 個のみが使用されます。DESeq2 が収束に失敗した場合や発現差のある遺伝子がない場合、このファイルは生成されません。
Control_vs_Comparison.genes.ma.png	平均シグナル強度の関数としての遺伝子発現率のばらつき。このプロットは、2 つのサンプルで得られた測定値について、データを M（対数比）と A（平均）にスケールしてから、それらの値をプロットすることによって測定値間の相違を示すものです。この MA プロットは、すべてのサンプルについてのノーマライズされたカウントの平均値に対する、所定の変数に起因する log2 倍率変化を示します。調査された p 値が 0.1 未満の場合、点は赤色で表示されます。ウィンドウ外になる点は、上向きまたは下向きの中抜き三角形としてプロットされます。
Control_vs_Comparison.genes.pca.png	最も大きな分散となる最初の 2 つの主成分に基づいてプロットします。

DRAGEN BCL Convert

DRAGEN BCL Convert アプリケーションは、以下の機能をサポートしています。

- 入力 BCL ファイルの圧縮の解凍
- サンプルデマルチプレックス
- UMI およびアダプターの処理
- サンプルごとの設定
- FASTQ ファイルの生成
- ORA または Gzip 形式への FASTQ ファイルの圧縮
- FASTQ QC メトリクスの生成（最初の 1,024 サンプルのみ）

以下の入力が必要です。

- NovaSeq X Plus システム装置から生成された BCL データ
- RunInfo.xml
- サンプルシート

DRAGEN BCL Convert は、以下の出力を生成します。

コンポーネント	タイプ	出力ファイル名
BclConvert	FASTQ	<ul style="list-style-type: none"> • <Sample_ID>_Sm_L00n_Rp_001.fastq.gz • m = 面番号 • n = レーン番号 • p = リード番号 (1 または 2)

DRAGEN BCL Convert パイプラインは、シーケンスランから生成される BCL データとサンプルシート情報を使用して、FASTQ ファイルを出力します。FASTQ ファイルのファイル名は <Sample_ID>_Sm_L00n_Rp_001.fastq.gz です。

デマルチプレックスメトリクス

すべての DRAGEN パイプラインは、デフォルトで以下のデマルチプレックスファイルを生成します。集約されたファイルが Demux フォルダに保存されます。

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
上位の不明なバーコード	CSV	• Top_Unknown_Barcodes.csv
インデックスホッピング	CSV	• Index_Hopping_Counts.csv

Illumina DRAGEN の QC レポート

すべてのパイプラインについて、DRAGEN FastQC は、デフォルトで QC プロットを生成します。集約された QC 結果は AggregatedReports フォルダに保存されます。

サンプル数が 1,024 個以下の場合のみ、メトリクスが生成されます。

提供される QC プロットの詳細については、[87 ページの「NovaSeq X Plus システムの二次解析レポート」](#)を参照してください。

メンテナンス

本セクションでは、NovaSeq X Plus システムのメンテナンスに必要な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

データストレージ容量が不足している場合、プレランチェック中に警告通知が表示されます。使用可能なスペースと、ランやリソースで消費されているスペースを確認できます。以下の手順に従って、完了したランやインストール済みのリソースを装置のランフォルダーから削除してスペースをクリアできます。

ランの削除

以下の手順に従って、ランを削除します。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、NovaSeq X Series 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、Control Software に悪影響が生じる可能性があります。削除したランをリキューすることはできません。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Runs] を選択します。
3. 削除するランの [Action] 列で [...] アイコンを選択します。
4. 次のいずれかのオプションを選択します。
 - [Delete run data] : シーケンスと解析の出力フォルダーは削除されますが、ランは [Completed] タブから削除されません。ランの詳細は表示できますが、DRAGEN の二次解析レポートは表示できません。
 - [Delete run] : ランデータが削除され、ランが [Completed] タブから削除されます。
5. ダイアログボックスでランの削除を確認します。
6. 削除したい各ランについて、手順 3 および 5 を繰り返します。

リソースの削除

以下の手順に従って、リファレンスゲノムまたはリファレンスファイルを削除します。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Resources] を選択します。
3. [Genomes] タブまたは [Reference files] タブを選択します。
4. 削除するゲノムまたはリファレンスファイルの削除アイコンを選択します。
5. ダイアログボックスで [Yes, remove] を選択して確認します。
6. 削除したい各ゲノムまたはリファレンスファイルについて、手順 4 および 5 を繰り返します。

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。

- NovaSeq X Series Control Software
- NovaSeq X Plus レシピ
- Universal Copy Service
- Real-Time Analysis

スイートのインストーラーは、[NovaSeq X シリーズのサポートサイトページ](#)から手動でダウンロードできます。管理者のみが、ソフトウェアアップデートをインストールできます。

1. ソフトウェアアップデートが利用可能な場合、[NovaSeq X シリーズサポートページ](#)からスイートインストーラー (*.run.gpg) 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ネットワークドライブに保存します。
2. シーケンスランまたは装置上の二次解析が進行中でないことを確認してください。
3. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
4. [Settings] を選択してから [Software updates] を選択します。
5. [browse for software updates] の下で [Select...] を選択します。
6. インストーラーファイルに移動し、[Open] を選択します。
7. [Install updates] を選択します。
8. ilmadmin パスワードを入力し、[Authenticate] を選択します。
9. インストール後、[Shut down] を選択します。
ソフトウェアアップデートをインストールするには、装置を再起動する必要があります。[115 ページの「装置のシャットダウンまたは再起動」](#)を参照してください。

エアフィルターの交換

3 か月ごとに、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。エアフィルターを交換した後、エアフィルターの使用期限をリセットすることができます。

エアフィルターは使い捨てのフィルターで、装置前面下部の引き出しにある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。装置には、1つのエアフィルターが装着済みで、予備のフィルターが4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いるほか、イルミナから別途購入することもできます。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Unlock doors] を選択します。
3. 装置の両方の側を選択して、[Unlock doors] を選択します。
装置ドアのロックが解除され、エアフィルター引き出しにアクセスできます。

4. 装置下部にあるエアフィルター引き出しの下にあるラッチを押し、握ったままにします。
5. フィルター引き出しを引いて開けます。
6. 使用済みのエアフィルターを取り外します。
7. ラベルを作業側に向けて新しいエアフィルターを挿入します。
8. フィルター引き出しを閉じます。
9. [Unlock doors] 画面で [Reset filter expiry] を選択します。
10. 装置ドアが閉じていることを確認してから、[Lock doors] を選択します。

Preventive Maintenance (PM)

イルミナでは、Preventive Maintenance (PM) サービスを毎年受けていただくことを推奨しています。保守契約を締結されていない場合は、営業担当またはイルミナテクニカルサポートに連絡して PM サービスを手配してください。

メンテナンスウォッシュの実施

メンテナンスウォッシュは、14 日ごとに、または、ポストランウォッシュが失敗したか完了しなかった場合に必要になります。

メンテナンスウォッシュでは、ユーザーが用意した Tween 20 と NaOCl の希釈液を使用してシステムを洗浄します。希釈液はポンプによって洗浄カートリッジからフローセル、廃液ボトル、および各カートリッジリザーバーに圧送され、すべてのシッパが洗浄されます。洗浄時間はおよそ 3 時間です。

メンテナンスウォッシュには、洗浄用試薬カートリッジ、使用済みバッファーカートリッジ、および新しい洗浄フローセルがシステムから取り外されていない使用済みの 8 レーンシーケンスフローセルが必要です。

洗浄溶液の調製

1. ラボラトリーグレード水 400 mL を 500 mL の遠心ボトルに入れます。
2. 100% Tween 20 を 0.2 mL 添加して、少なくとも 380 mL の 0.05% Tween 20 洗浄溶液を作ります。用時調製された Tween 20 の希釈液を使用することで、フルイデックスシステムへの夾雑物の侵入を抑制します。
3. 転倒混和します。
4. 洗浄溶液を洗浄用試薬カートリッジの洗浄溶液ウェルに追加します。
5. 50 mL の遠心チューブで次のものを混ぜ合わせて、49 mL の 0.12% 試薬グレード NaOCl を調製します。
 - 5% 試薬グレード NaOCl (1.2 mL)
 - 脱イオン水 (48 mL)

! 必ず試薬グレードの NaOCl を使用してください。汎用的な漂白剤にはアンモニア化合物が含まれている場合があります。これが原因でランのパスフィルターリードの割合が下がる可能性があるため、汎用的な漂白剤は避けてください。

6. 転倒混和します。
7. 洗浄用試薬カートリッジの漂白ウェルに 0.12% 試薬グレード NaOCl を 49 mL 加えます。

洗浄消耗品のロード

以下の手順に従って、メンテナンスウォッシュ消耗品を装置にロードします。

メンテナンスウォッシュの開始

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Wash] を選択します。
3. 洗浄を実施する装置の側を選択します。
4. [110 ページの「洗浄フローセルのロード」](#)に進みます。

洗浄フローセルのロード

装置に既にロードされている使用済みのシーケンスフローセルか新しくロードした洗浄フローセルを使用して、メンテナンスウォッシュを実施します。必要に応じて、以下の手順を実行します。

使用済みのシーケンスフローセル

1. [Wash] 画面で [Unload wash flow cells] を選択します。
選択した後、ディスプレイモニターが上昇し、フローセルドアが開きます。フローセルのライトが、洗浄が実施される装置サイドを示します。
2. 使用済みのシーケンスフローセルが既にシステムにロードされていることを確認します。
3. [Load wash flow cells] を選択します。
4. すべての消耗品がロードされたら、[Start wash] を選択します。

新しい洗浄フローセル

1. [Wash] 画面で [Unload wash flow cells] を選択します。
選択した後、ディスプレイモニターが上昇し、フローセルドアが開きます。フローセルのライトが、洗浄が実施される装置サイドを示します。
2. フローセルステージに夾雑物（微粒子、細かいごみ、乾燥した試薬など）がないか点検します。夾雑物がある場合、以下の手順でフローセルステージを清掃します。
 - a. イソプロピルアルコール（70%）で Polynit Heatseal Wipe を湿らせます。
 - b. 該当する表面を優しく清掃します。必ず縦方向にのみ拭きます。
フローセルステージを拭く際、マニフォールドに夾雑物がある場合を除き、マニフォールドには触れないでください。
 - c. 表面のすべての夾雑物がなくなるまで、手順 a および b を繰り返します。
 - d. 汚染を避けるために、表面に残っている液体を新しい Polynit Heatseal Wipe か使用したワイプの未使用の側で拭き取ります。
3. フローセルのガラス面の汚染を防ぐため、新しいパウダフリーの手袋を着用します。

4. フローセルホイルパッケージを平らな面に置き、角にあるタブからホイルを開きます。
5. パッケージからフローセルを取り出します。ガラスまたは裏面のガスケットに触れないように、フローセルの側面を持ちます。
6. 洗浄フローセルに夾雑物（微粒子、細かいごみ、乾燥した試薬など）がないか点検します。夾雑物がある場合、以下の手順で洗浄フローセルを清掃します。
 - a. イソプロピルアルコール（70%）で Polynit Heatseal Wipe を湿らせます。
 - b. 該当する表面を優しく清掃します。必ず縦方向にのみ拭きます。
 - c. 表面のすべての夾雑物がなくなるまで、手順 a および b を繰り返します。
 - d. 汚染を避けるために、表面に残っている液体を新しい Polynit Heatseal Wipe か使用したワイプの未使用の側で拭き取ります。
7. パッケージを適切に廃棄します。
8. フローセルの上面を上に向けて、フローセルステージに載せます。
9. フローセルがロードされたら、[Load wash flow cells] を選択します。
1分後、スキャンされたフローセルからの情報が Control Software に表示されます。
10. すべての消耗品がロードされたら、[Start wash] を選択します。

洗浄用試薬カートリッジのロード

以下の手順に従って、洗浄用試薬カートリッジを装置にロードします。メンテナンスウォッシュを実施する際は、バッファークートリッジを交換する必要はありません。

1. 洗浄用試薬カートリッジをすすぎ洗いし、ペーパータオルでカートリッジ下部の水分を拭き取ります。カートリッジウェルの内部は拭かないでください。試薬カートリッジの洗浄ウェルを拭くと、洗浄プロセスに影響が生じる場合があります。
2. [Wash] 画面で [Unload wash reagents] を選択します。
装置ドアのロックが自動的に解除され、洗浄用試薬カートリッジとバッファークートリッジのロードに関する情報がシステムに表示されます。
3. 使用済みのシーケンス試薬カートリッジを取り出します。試薬カートリッジをリサイクルする手順については、[73 ページの「使用済みの消耗品のリサイクル」](#)を参照してください。
4. イルミナのラベルを正面に向けて洗浄用試薬カートリッジを右側にロードします。
5. [Load wash reagents] を選択します。
6. 廃液ボトルを空にします。詳細については、[69 ページの「廃液ボトルを空にする」](#)を参照してください。
7. 廃液ボトルを空にしたら、[Confirm] を選択します。
8. 試薬引き出しを閉じて、装置ドアを閉じます。
9. すべての消耗品がロードされたら、[Start wash] を選択します。
洗浄が開始されると、装置ドアは自動的にロックされます。洗浄が完了するとドアのロックが解除され、[Start] 画面が表示されます。

廃液ボトルを空にする

以下の手順に従って、各シーケンスランの前に廃液ボトルを空にします。使用済みの試薬カートリッジとバッファボトルをリサイクルする方法の詳細については、73 ページの「使用済みの消耗品のリサイクル」を参照してください。

! | 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。

廃液ボトル（小）を空にする

1. 廃液引き出しの奥から廃液ボトル（小）を取り出します。ボトルの側面を持ちます。
2. 廃液ボトル背面のキャップホルダーからスクリーキャップを取り外します。
3. ボトルの開口部をキャップで塞ぎ、処理済み試薬がこぼれないようにします。
4. ボトルの中身は廃液ボトル（大）の中身から離しておき、各地域の適切な基準に従って廃棄します。
5. キャップを外したボトルを廃液引き出しに戻します。外したキャップはキャップホルダーに保管します。



廃液ボトル（大）を空にする

1. 上部のハンドルを持って廃液ボトル（大）を廃液引き出しの前面から取り出します。
2. 廃液ボトル背面のキャップホルダーからスクリーキャップを取り外します。
3. ボトルの開口部をキャップで塞ぎ、処理済み試薬がこぼれないようにします。
4. 通気孔の栓を外します。
通気孔の栓を外すと、ボトルの側面からの漏れを最小限に抑えることができます。
5. 各地域の適切な基準に従って、中身を廃棄します。中身を空けるときは、両方のハンドルをつかみます。
6. ボトルを空にしたら、通気孔を栓で塞ぎます。
7. キャップを外したボトルを通気孔に栓を付けた状態で廃液引き出しに戻します。スクリーキャップはキャップホルダーに保管します。



8. 新しいパウダーフリーの手袋を着用します。

トラブルシューティング

本セクションでは、ランのキャンセル、装置のシャットダウンと再起動、およびその他のトラブルシューティングの手順について説明します。

ランの中断終了

装置のシーケンスランを中断終了できます。NovaSeq X Plus システムでランを中断終了することは、最終措置です。中断終了したランは再開できず、そのシーケンスデータは保存できません。また、消耗品も再使用できません。

1. [Sequencing] 画面に移動します。
2. [Cancel run] を選択してランを中断終了させます。
3. ランの現在の状態に応じて、ストレージの場所へのデータアップロードをキャンセルするオプションや解析をキャンセルするオプションを追加で使用できる場合があります。
4. [Yes, cancel run] を選択してランの中断終了を確認します。
ランを中断終了させると、[Completed] タブで、そのランの状態が [Canceled] と表示されます。

二次解析のリキュー

二次解析中に、ランをリキューして装置上の DRAGEN 解析を再度実行できます。進行中のシーケンスランがある場合やランデータが装置から削除された場合は、リキューできません。

解析をリキューするには、以下の手順を実行します。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Runs] を選択してから [Completed] タブに移動します。
3. リキューするランを選択します。
4. [secondary analysis] の下で [Requeue analysis] を選択します。
5. 解析のリキューをローカルのランに対して実行する場合、次のいずれかのリキューオプションを選択します。
 - [Requeue analysis from this run] : 選択したランで生成されたファイルを使用してリキューを実行します。リキューされた解析ファイルを出力するフォルダーを選択できます。
 - [Requeue analysis from a sample sheet] : サンプルシートを使用してリキューを実行します。このリキューでは、サンプルシートに指定された解析構成を使用します。
6. 解析のリキューをクラウドまたは手動のランに対して実行する場合、[Requeue analysis from sample sheet] を選択します。
7. シーケンスデータのファイルパスを入力します。
このパスは、解析のリキューを実行する際の外部ストレージの場所を決定します。
8. [Reason] フィールドにリキューの説明を入力します。
9. 入力が完了したら、[Requeue analysis] を選択します。

10. 次のいずれかの操作を実行します。

- リキューから特定の構成 [Configuration] を排除するには、構成名の隣にある [Delete] を選択します。
- 構成情報を変更するには、構成名の隣にある [Edit] を選択します。
- 構成を追加するには、[Add configuration] を選択します。

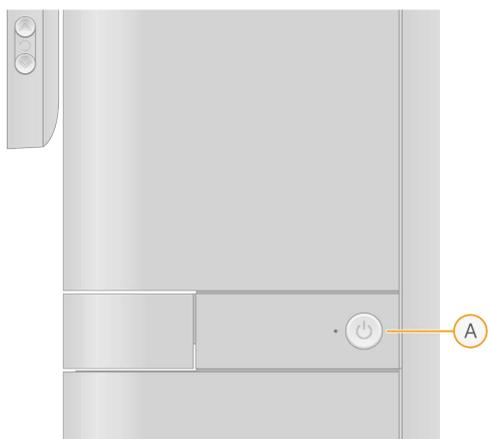
11. 入力が完了したら、[Requeue analysis] を選択します。

装置のシャットダウンまたは再起動

シーケンスランまたは二次解析が進行中でない場合、装置を安全にシャットダウンできます。また、エラーや警告を解決するために装置のシャットダウンや再起動が必要な場合、それを促すメッセージが表示されます。

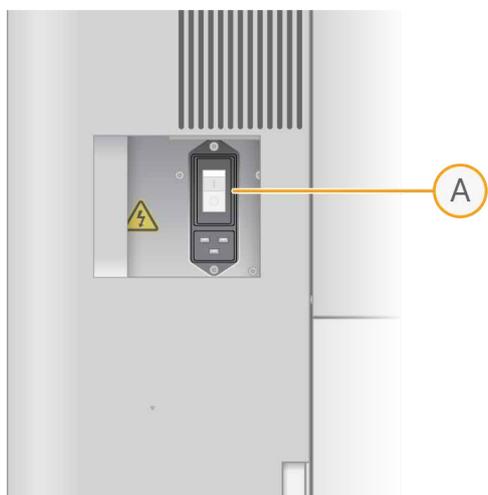
1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Shut down] を選択します。
3. システムがシャットダウンしない場合は、装置右側の電源ボタンを 5 秒間押し続けます。

図 17 電源ボタンの位置



4. 装置の背面にあるトグルスイッチをオフ（O）側に押しします。

図 18 電源トグルスイッチの位置



5. 30 秒間待機します。
6. トグルスイッチをオン (I) 側に押します。
7. 装置の右側にある電源ボタンを押します。
8. 電源ボタンが点滅を開始したら、30 秒間待機してから電源ボタンを押します。
オペレーティングシステムがロードされたら、システムにサインインできます。

DRAGEN のセルフテストの実行

セルフテストを実行して、1つまたは複数以上の DRAGEN FPGA チップに依存して解析エラーが発生しているかどうかを特定できます。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [DRAGEN] を選択します。
3. [Run self test] を選択します。

DRAGEN ライセンスのインストール

装置には、DRAGEN のライセンスが事前にインストールされています。ライセンスエラーをトラブルシューティングする場合を除き、DRAGEN ライセンスをインストールする必要はありません。

管理者のみが、DRAGEN ライセンスを再インストールできます。

以下の手順に従って、DRAGEN ライセンスを再インストールします。

オンラインでの DRAGEN ライセンスのインストール

NovaSeq X Plus システムがインターネットに接続されている場合、NovaSeq X Series Control Software に DRAGEN ライセンスを直接インストールできます。

1. Control Software で、装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [DRAGEN] を選択します。
3. [Licenses] の下で [Update from LUS] を選択します。
ライセンス更新サーバーから、更新されたライセンスが取得されます。
4. 新しいライセンスがインストールされた後、[Run Self-Test] を選択します。

オフラインでの DRAGEN ライセンスのインストール

1. ライセンスファイルが破損している場合は、イリミナテクニカルサポートに連絡し、新しいライセンスを入手します。
2. Control Software で、装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
3. [Settings] を選択してから [DRAGEN] を選択します。
4. [Licenses] の下で [Update] を選択します。
5. ライセンスの *.zip ファイルに移動し、[Open] を選択します。
6. 新しいライセンスがインストールされた後、[Run Self-Test] を選択します。

監査ログの確認

管理者は、装置上またはネットワーク接続されたコンピューターで装置の監査ログを確認できます。監査ログには、ユーザーがシステム上で実行したすべての操作が記録されます。

以下の手順に従って、監査ログを確認します。

1. 装置アイコンを選択してグローバルナビゲーションメニューを開きます。
2. [Settings] を選択してから [Audit log] を選択します。
3. 以下のフィルターを使用して、監査ログの結果を絞り込むことができます。
 - 日付：カレンダーアイコンを選択するか、[From] および [To] 日付フィールドに YYYY-MM-DD 形式で日付を入力することによって、日付範囲で操作を絞り込みます。
 - 操作の種類：[Type] フィールドに操作を入力することによって、実行された操作の種類で絞り込みます。
 - ユーザー：[Who] フィールドにユーザー名を入力することによって、操作を実行したユーザーで絞り込みます。
 - 説明：[Description] フィールドに操作の説明を入力することによって、追加の詳細で絞り込みます。
4. [Filter] を選択してフィルターを適用します。
5. 監査ログの PDF ファイルをエクスポートするには、[Export log] を選択します。

リソースおよび参考資料

[イルミナのサポートサイト](#)の NovaSeq X シリーズサポートページで追加のリソースを提供しています。常にサポートページを確認して最新バージョンを入手してください。

ダークサイクルシーケンス

本セクションでは、ダークサイクルシーケンスをレシピで使用する方法を説明します。

ダークサイクルシーケンスは、あるシーケンスサイクルのケミストリーステップのみを完了するために使用します。ダークサイクルシーケンスが必要かどうかを確認するには、[イルミナのサポートサイト](#)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。

以下の手順に従って、ダークサイクルシーケンスを実行します。

1. [イルミナのサポートサイト](#)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. レシピファイルの <ReadDefinitions> セクションに移動し、<ReadDefinition Name="Read 1"> および <ReadDefinition Name="Read 2"> セクションを見つけます。
 - b. <ReadDefinition Name="Read 1"> で、<ChemistryRef ChemistryName="FirstBase"/> の後に、次のダークサイクルステップを新しい行として追加します。

```
<ChemistryRef ChemistryName="CompleteCycleReuse"/>.
```
 - c. <ReadDefinition Name="Read 1"> で、<ImagingRef ImagingName="Cycle1ReadImaging"/> の前に、ダークサイクルステップを新しい行として追加します。
 - d. <ReadDefinition Name="Read 2"> で、<ImagingRef ImagingName="Cycle1ReadImaging"/> の前と <ChemistryRef ChemistryName="FirstBase"/> の後に、ダークサイクルステップを新しい行として追加します。
3. レシピ XML ファイルを保存します。

ダークサイクルステップを含むサンプルレシピを以下に示します。

```
...
<ReadDefinitions>
<ReadDefinition Name="Read 1">
<CycleStepCollection Name="Cycle1" Cycles="1">
<ChemistryRef ChemistryName="FirstBase"/>
<ChemistryRef ChemistryName="CompleteCycleReuse"/>
<ImagingRef ImagingName="Cycle1Read1Imaging"/>
</CycleStepCollection>
<CycleStepCollection Name="CompleteCycle"
Cycles="read1cycles-1">
<ChemistryRef ChemistryName="CompleteCycleReuse"/>
<ImagingRef ImagingName="CompleteCycleImaging" />
</CycleStepCollection>
</ReadDefinition>
...
<ReadDefinition Name="Read 2">
<CycleStepCollection Name="Cycle1" Cycles="1">
<ChemistryRef ChemistryName="FirstBase"/>
<ChemistryRef ChemistryName="CompleteCycleReuse"/>
<ImagingRef ImagingName="CompleteCycleImaging" />
</CycleStepCollection>
<CycleStepCollection Name="CompleteCycle"
Cycles="read2cycles-1">
<ChemistryRef ChemistryName="CompleteCycleReuse"/>
<ImagingRef ImagingName="CompleteCycleImaging" />
</CycleStepCollection>
</ReadDefinition>
</ReadDefinitions>
...
```

改訂履歴

文書	日付	変更内容
文書番号： 200027529 v02	2023 年 2 月	NovaSeq X Plus システムに関する以下の情報を追加。 <ul style="list-style-type: none">• プロトコール• ハードウェア構成• 消耗品および機器• ソフトウェアおよびシステムの設定• カスタムプライマー• シーケンス出力ファイルおよび構造• メンテナンスおよびトラブルシューティング• 日本コンプライアンス 以下の情報を更新。 <ul style="list-style-type: none">• レーザーの安全性に関する警告• 木枠梱包の内容および配送要件• ネットワーク接続要件
文書番号： 200027529 v01	2022 年 11 月	<ul style="list-style-type: none">• シーケンス消耗品ボックスの寸法を追加。• RFID の位置および Lyo インサートカバーを開く手順を明確化。• 装置の寸法およびネットワーク要件を明確化。
文書番号： 200027529 v00	2022 年 9 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。診断目的での使用はできません。
© 2023 Illumina, Inc. All rights reserved.

illumina®

正誤表

ページ番号	章・節	原文	修正内容
p.80	シーケンスの出力 クオリティスコアリングおよびレ ポーティング	NovaSeq X シリーズの Q テーブルを生成するにあたり、これらの特別な予測機能のクラスタリングに基づいて、ベースコールの 3 つのグループを決定しました。ベースコールのグループ化に続いて、3 グループそれぞれの平均エラー率を経験に基づいて計算し、対応する Q スコアを、そのグループに関連する予測機能とともに Q テーブルに記録しました。そのため、RTA3 では、3 つの Q スコアのみが可能であり、これらの Q スコアはグループの平均エラー率を示します。	NovaSeq X シリーズの Q テーブルを生成するにあたり、これらの特別な予測機能のクラスタリングに基づいて、ベースコールの 3 つのグループを決定しました。ベースコールのグループ化に続いて、3 グループそれぞれの平均エラー率を経験に基づいて計算し、対応する Q スコアを、そのグループに関連する予測機能とともに Q テーブルに記録しました。そのため、RTA4 では、3 つの Q スコアのみが可能であり、これらの Q スコアはグループの平均エラー率を示します。 NovaSeq X シリーズでは、装置の Compute Engine (CE) で RTA4 (Real-Time Analysis ソフトウェア) が稼働している旨を説明している節であるため、RTA4 に修正。