



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

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

本文書に含まれるすべての指示を熟読せず、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。

© 2015 Illumina, Inc. All rights reserved. 本製品は研究目的での使用に限定されます。

Illumina、24sure、BaseSpace、BeadArray、BlueFish、BlueFuse、BlueGnome、cBot、CSPRO、CytoChip、DesignStudio、Epicentre、ForenSeq、Genetic Energy、GenomeStudio、GoldenGate、HiScan、HiSeq、HiSeqX、Infinium、iScan、iSelect、MiSeq、MiSeqDx、MiSeqFGx、NeoPrep、NextBio、Nextera、NextSeq、Powered by Illumina、SureMDA、TruGenome、TruSeq、TruSight、Understand Your Genome、UYG、VeraCode、verifi、VeriSeq、パンプキンオレンジ色および遺伝子エネルギーの流れをベースとしたデザインは、Illumina, Inc.の商標または登録商標です。本文書に含まれるその他すべてのブランドおよび名称は、それら個別の所有者に帰属する所有物です。

# 改訂履歴

文書番号	日付	変更内容
資材番号：20000262 文書番号：15027617 v01	2015年 9月	<p>本ガイドの名称を『MiSeq System User Guide』から『MiSeq System Guide』に変更しています。</p> <p>MCS v2.6の新機能として、BaseSpace Onsiteに関する情報を追加しています。</p> <p>画面ではなくタスクに関連させてガイド情報を再整理しています。</p> <p>[Welcome] 画面に関する記述をすべて [Home] 画面に変更しています。</p> <p>フローセルタイプ、試薬カートリッジの内容物、および試薬カートリッジ融解手順など、『MiSeq Reagent Kit Reagent Prep Guides』内に情報を追加しています。MiSeq Reagent Kitの詳細情報については、イルミナのウェブサイト <a href="http://support.illumina.com/sequencing/sequencing_kits/miseq_reagent_kit.html">support.illumina.com/sequencing/sequencing_kits/miseq_reagent_kit.html</a> を参照してください。</p> <p>メンテナンス洗浄の予測される洗浄容積を17.25 mLから51.75 mLに修正しています。</p> <p>最初に試薬カートリッジを調製し、必要な場合にライブラリーを変性させて希釈するようワークフローステップの順序を更新しています。</p> <p>トラブルシューティング情報を付録Aに移動しています。</p> <p>出力フォルダ情報およびフローセルタイトル情報を付録Bに移動しています。</p> <p>ファイル管理に関する情報を「メンテナンス」章に移動しています。</p> <p>ラン後の洗浄の手順を「メンテナンス」章から「シーケンス」章に移動しています。</p> <p>「ランの実行」章の名称を「シーケンス」に変更しています。</p> <p>一次解析に関する記述をRTAソフトウェアによる解析に変更しています。</p> <p>テンプレートライン洗浄によるラン後の洗浄手順の希釈指示内容を6%のNaOClから5%のNaOClに更新しています。</p> <p>5%NaOClのパーツ番号をユーザーが用意する消耗品リストに追加しています。</p>
パーツ番号：15027617改訂O	2014年 9月	<p>以下の情報を更新しています：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• MCS v2.5の新機能として、テンプレートライン洗浄を含むラン後の洗浄オプションを更新しています。</li> <li>• 次亜塩素酸ナトリウム液を用いたラン後洗浄用の指示内容をテンプレートライン洗浄に変更しています。</li> <li>• ラン後の洗浄の予測される洗浄容積を追加しています。</li> </ul> <p>追加リソース、ランオプション、二次解析オプション、装置洗浄、およびフローセルキャップの色に関するVeriSeq PGSワークフロー情報の追加しています。</p>

文書番号	日付	変更内容
パーツ番号：15027617改訂N	2014年 6月	VeriSeq PGSワークフローに適用可能な情報を追加しています。 クラスター形成および密度といったランメトリクス情報を更新しています。 アンチウイルスソフトウェアに関する情報を削除しています。『MiSeq System Site Preparation Guide』を参照してください。
パーツ番号：15027617改訂M	2014年 1月	MCS v2.4において以下のように変更しています： トラブルシューティングファイルを送信するためのバンドルログ機能を追加しています。
パーツ番号：15027617改訂L	2013年 10月	プレランの手順としてシステムソフトウェアの再起動を追加しています。 ユーザーが用意する消耗品のリストに遠心チューブを追加しています。 MiSeq Softwareの個別の章を削除し、内容をガイド内に分散して表記しています。 カスタムレシピのフォルダに関する情報を削除しています。 MiSeq Reagent Kitsのためのクラスター密度の推奨範囲に関する情報を削除しています。 MiSeq Reagent Kitsに関する詳細を削除し、試薬キット機能の概要を追加しています。詳細に関しては、ご利用になるキットのサンプル調製キットのマニュアルを参照してください。 商標権記載欄に内容を追加しています。
パーツ番号：15027617改訂K	2013年 8月	形式のエラーを修正しています。
パーツ番号：15027617改訂J	2013年 8月	MCS v2.3とMiSeq Reagent Kit v3のランの説明を追加しています。 以下の情報を更新しています： <ul style="list-style-type: none"> <li>試液キットとバージョン互換性にMiSeq Reagent Kit v3を含めています。</li> <li>カスタムレシピフォルダの説明にv3サブフォルダを含めています。</li> <li>v2のクラスター密度を変更し、v3の範囲を追加しています。</li> <li>イメージファイルの出力パス</li> </ul> ナノフローセル (D) とマイクロフローセル (G) のフローセルのバーコードを修正しています。 内容物とフローセルタイプを含む、MiSeq Reagent Kitに関する情報を削除しています。詳細については、『MiSeq Reagent Preparation Guide (文書番号：15044983)』を参照してください。

文書番号	日付	変更内容
パーツ番号：15027617改訂H	2013年 3月	<p>解析ワークフロー、マニフェストファイルおよびサンプルシートを導入するための「<i>MiSeq</i>の概念」というタイトルの章を追加しています。</p> <p>FASTQファイル生成に関する情報、マニフェストファイル形式に関する情報、解析ワークフローの詳細、およびサンプルシートの詳細を削除しています。これらのトピックに関する詳細は、『<i>MiSeq Reporter User Guide</i>』、パーツ番号15028784、または『<i>MiSeq Sample Sheet Quick Reference Guide</i>』、パーツ番号15028392を参照してください。</p> <p>カスタムプライマーを調製するための手順を削除していません。詳細については、『<i>Using Custom Primers on the MiSeq</i>』、パーツ番号15041638を参照してください。</p>
パーツ番号：15027617改訂G	2013年 1月	<p>DNAライブラリーを変性させて希釈し、イルミナPhiX Controlを調製するための手順を削除しています。</p> <p>『<i>Preparing DNA Libraries for Sequencing on the MiSeq</i>』、パーツ番号15039740を参照してください。</p> <p>500 mLではなく475 mLのラボラトリーグレード水に25 mLの10% Tween 20を添加するよう指示するために、装置洗浄の手順を更新しています。</p>
パーツ番号：15027617改訂F	2012年 11月	<p>以下の新しい情報を追加しています。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>新しい<i>MiSeq Reagent Kits</i> (<i>MiSeq Reagent Nano Kit</i>および<i>MiSeq Reagent Micro Kit</i>) に対してキットの説明を追加しています。</li> <li>フローセルタイプの概要を追加しています。</li> <li>Enrichment解析ワークフローの説明を追加しています。</li> </ul> <p>以下の情報を更新しています：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>MCS v2.1の新機能で、ラン後の洗浄のオプションとシッパを持ち上げるコマンドを追加するために [Perform Wash] 画面を更新しています。</li> <li>ナノキットおよびマイクロキットとの依存関係を含めるために互換性の表を更新しています。</li> <li>新しい試薬キットを含めるために互換性に関する情報を更新しています。</li> </ul>
パーツ番号：15027617改訂E	2012年 10月	<p>以下の情報を更新しています：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>PhiXコントロール調製手順を修正し、調製されたPhiXコントロールのクラスター密度を1000~1200 K/mm<sup>2</sup>と予測しています。</li> <li>ライブラリーを変性させて希釈するための手順である「ライブラリーの調製」が<i>Nextera XT</i>ライブラリーと<i>TruSeq Amplicon</i>ライブラリーに適用しないことを注記しています。</li> <li>アップグレード名を<i>MiSeq Expansion Pack</i>から<i>MiSeq</i>ハードウェアアップグレードに変更しています。</li> <li>『<i>MiSeq Reporter User Guide</i>』を追加リソースリストに追加しています。</li> </ul>

文書番号	日付	変更内容
パーツ番号：15027617改訂D	2012年 7月	<p>ソフトウェアの記述をMGS v2.0に変更しています。 以下の新しい情報を追加しています。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ソフトウェアの新機能、インターフェースの変更、およびワークフローの変更について説明するために、「MGSの新機能」というセクションを追加しています。</li> <li>• MiSeq Reagent Kit v2, 500 Cyclesのカタログ番号と説明を追加しています。</li> <li>• バージョンの互換性および要件のセクションを追加しています。</li> <li>• MiSeq Expansion Pack（14タイルのデュアルサーフェスフローセルイメージングに必要）の説明を追加しています。</li> <li>• デュアルサーフェスフローセルタイルの番号付けの説明を追加しています。</li> <li>• NexteraXT ライブラリーのPCR Amplicon解析ワークフローを追加しています。</li> <li>• 10% Tween 20の使用洗浄の手順に追加し、予測される洗浄容量を示しています。</li> <li>• RFIDリードエラーの手順に試薬カートリッジバージョンを追加しています。</li> </ul> <p>以下の情報を更新しています：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• IMF、CMF、およびAMXの試薬の頭字語をそれぞれv2の試薬名であるIMS、CMS、およびAMSに変更しています。</li> <li>• PhiXの濃度を8 pMから12.5 pMに変更しています。</li> <li>• 最終溶液で推奨される最高NaOH濃度を1 mMに変更しています。</li> <li>• スタンバイモードから装置を取り外して後続のランをセットアップするステップを開始するには、メンテナンス洗浄が必要であることを注記しています。</li> <li>• 「サンプルシートパラメーター」セクションおよびサンプルシートセットアップの手順をワークフローから削除しています。イルミナでは、サンプル調製の前にサンプルシートを作成することを推奨しています（『MiSeq Sample Sheet Quick Reference Guide』、パーツ番号15028392および『Illumina Experiment Manager User Guide』、パーツ番号15031335を参照）。</li> </ul>

文書番号	日付	変更内容
パーツ番号：15027617改訂C	2012年 4月	<p>ソフトウェアの記述をMCS v1.2に変更しています。</p> <p>以下の新しい手順とセクションを追加しています：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>「BaseSpaceの概要」、「カスタムプライマーの使用」、「FASTQファイルの生成」、「流量エラーのトラブルシューティング」、「容積テストの実施」、「メンテナンス洗浄の実施」、および「装置のアイドリング」（スタンバイウォッシュを含む）。</li> </ul> <p>以下の情報を更新しています：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• AmpliconワークフローからCustom Ampliconに名称を変更し、DenovoAssemblyワークフローからAssemblyに名称を変更し、GenerateFASTQワークフローを追加しています。</li> <li>• ランフォルダおよびランファイルの説明を追加し、ランフォルダの命名規則を更新し、出力ファイルのサイズを追加しています。</li> <li>• アンプリコンシーケンスに必要なゲノムフォルダをサンプルシートパラメーターに一覧表示しています。</li> <li>• ライブラリーを変性させるためにNaOHを希釈する手順を追加しています。</li> <li>• MiSeq Self-Serviceの手順を含むRFIDリードエラーの解決方法を更新しています。</li> <li>• ラン性能のトラブルシューティングに使用するファイルとフォルダのリストを表示しています。</li> </ul>
パーツ番号：15027617改訂B	2011年 12月	<p>ソフトウェアの記述をMCS v1.1に変更しています。</p> <p>ウイルス対策保護に関する情報を追加しています。</p> <p>以下の情報を更新しています：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• RFIDエラーを解決するための手順</li> <li>• ライブラリーの調製：0.2 N NaOHに変更しています。</li> <li>• ランフォルダの命名規則</li> <li>• 必要なディスク領域および記憶域容量</li> <li>• ランセットアップのステップ：サンプルシートをセットアップするための詳細情報を追加しています。</li> <li>• ランセットアップのステップ：残ったPR2の破棄に関する注意を追加しています。</li> <li>• 解析の実行時間：2時間を超える解析の場合を追加しています。</li> <li>• 解析のインプット要件：TruSeq Custom Ampliconライブラリーで必須であるマニフェストファイルを一覧表示しています。</li> <li>• MiSeq Reagent Kitの内容物であるHT1チューブのサイズを修正しています。</li> <li>• iComに関する記述をMylluminalに変更しています。</li> </ul>
パーツ番号：15027617改訂A	2011年 9月	初回リリース





# 目次

改訂履歴 .....	iii
目次 .....	ix
<b>第1章概要 .....</b>	<b>1</b>
はじめに .....	2
追加リソース .....	3
コンポーネント .....	4
MiSeqの概念 .....	7
MiSeqソフトウェア .....	8
二次解析オプション .....	11
Sequencing Analysis Viewer .....	13
必要なディスク領域 .....	14
MiSeq Reagent Kitの概要 .....	15
<b>第2章はじめに .....</b>	<b>19</b>
MiSeqの起動 .....	20
システム設定のカスタマイズ .....	21
BaseSpace最新版の設定通知 .....	22
電子メールの優先度の設定 .....	22
フォルダのデフォルトの場所設定 .....	23
ユーザーが用意する消耗品 .....	24
<b>第3章シーケンス .....</b>	<b>27</b>
はじめに .....	28
ラン実行時間 .....	29
MiSeqワークフロー .....	30
試薬カートリッジの融解 .....	32
試薬カートリッジの点検 .....	33
ライブラリーの変性と希釈 .....	34
サンプルライブラリーのロード .....	35
MCSを使用したランのセットアップ .....	36
フローセルの洗浄 .....	37
フローセルの装着 .....	39
試薬のロード .....	41
ランの開始 .....	44
ランのモニタリング .....	45
ラン後の洗浄の実施 .....	47

第4章メンテナンス .....	51
メンテナンスの頻度 .....	52
VeriSeq PGSワークフローのためのメンテナンス頻度 .....	53
メンテナンス洗浄の実施 .....	54
スタンバイウォッシュの実施 .....	57
ファイルの管理 .....	59
ソフトウェアの更新 .....	61
装置のシャットダウン .....	62
付録Aトラブルシューティング .....	63
はじめに .....	64
トラブルシューティングのためのバンドルログ .....	65
システムチェックの実施 .....	66
Live Help .....	67
ランの一時停止または停止 .....	68
試薬カートリッジシッパーの手動による持上げ .....	69
ランセットアップエラーの解決 .....	70
RFIDリードエラーの解決 .....	71
流量エラーのトラブルシューティング .....	73
容積テストの実施 .....	74
予測される洗浄容量の測定 .....	76
システム設定値の設定 .....	77
付録B出力ファイルとフォルダ .....	79
ランフォルダ .....	80
MiSeqOutputフォルダの内容 .....	81
RTAフォルダおよびファイル .....	82
索引 .....	85
テクニカルサポート .....	89

# 概要

はじめに .....	2
追加リソース .....	3
コンポーネント .....	4
MiSeqの概念 .....	7
MiSeqソフトウェア .....	8
二次解析オプション .....	11
Sequencing Analysis Viewer .....	13
必要なディスク領域 .....	14
MiSeq Reagent Kitの概要 .....	15



## はじめに

イルミナMiSeq®システムでは、実績のあるSequence by Synthesis(SBS)技術と、最短8時間でDNAを解析してデータ化できる革新的なワークフローが組み合わされています。MiSeqはクラスター形成、シーケンス、およびデータ解析を単一装置上で統合します。

## 機能

- ▶ **自動化による簡単操作**：充填された試薬カートリッジ、バッファーボトル、およびフローセルのローディングを含むランのセットアップが終了した後は、追加の操作時間は必要ありません。
- ▶ **試薬が充填されたカートリッジ**：クラスター形成およびシーケンスのための試薬（ペアエンドシーケンス試薬やインデックス試薬など）があらかじめ充填されている、専用設計された使い切りのカートリッジです。統合RFID（無線自動識別）タグにより、消耗品の正確な追跡が可能となっています。
- ▶ **インターフェースコントロール**：MiSeq Control Software(MCS)インタフェースにより、装置を設定し、ランのセットアップおよびモニタリングを実行し、メンテナンス手順を実施するためのコントロールを行うことができます。
- ▶ **便利なフローセルローディング**：クランプメカニズムにより、フローセルを装置にロードするだけで、自動的に位置決めされます。統合RFID（無線自動識別）タグにより、消耗品の正確な追跡が可能となっています。
- ▶ **革新的な送液アーキテクチャー**：MiSeq流路システムにより、シーケンス中の化学サイクルタイムにおいて類まれな効率性が発揮されます。
- ▶ **Real-Time Analysis(RTA)**：この統合解析ソフトウェアにより、シーケンスラン中にリアルタイムで装置上でのデータ解析（イメージ解析とベースコーリングを含む）が実行されるため、貴重な下流解析時間を節約できます。
- ▶ **MiSeq Reporter**：この統合二次解析ソフトウェアは、RTA解析データを処理してアライメントを実施し、解析したサンプルの情報をレポートします。

## 追加リソース

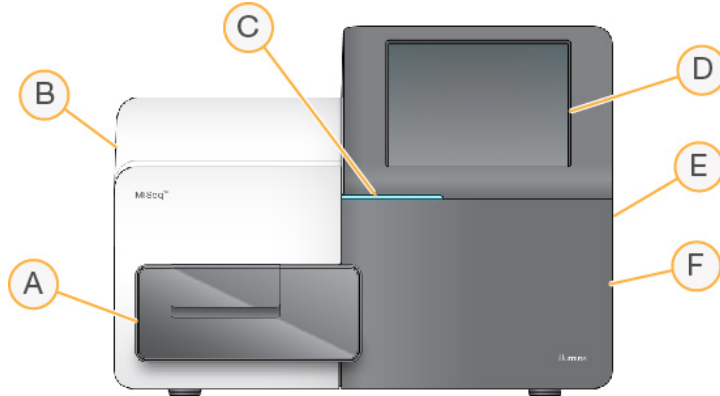
以下の文書は、イルミナのウェブサイトからダウンロードできます。

リソース	内容説明
『MiSeq System Site Prep Guide』	ラボスペース、電源要件、環境検討事項に関する仕様を示します。
『MiSeq System Safety and Compliance Guide』	装置ラベリング、コンプライアンス認証、安全検討事項についての情報を示します。
『Illumina Experiment Manager User Guide』	異なるワークフローやライブラリータイプ向けにサンプルプレートおよびサンプルシートを作成するための手順が含まれています。
『BlueFuse Workflow Manager Reference Guide』	VeriSeq PGSワークフローで使用するためのサンプルプレートおよびサンプルシート作成手順が含まれています。
『MiSeq Sample Sheet Quick Reference Guide』	サンプルシートへのサンプルシート設定の追加に関する情報が記載されています。
『Preparing DNA Libraries for Sequencing on the MiSeq』	MiSeqでシーケンスを行う前に調製済みサンプルライブラリーを変性させて希釈するための手順と、PhiXコントロールを調製するための手順が含まれています。このステップは大部分の種類のライブラリーに適用されます。
『Using Custom Primers on the MiSeq』	カスタムプライマーを調製してロードするための手順と、カスタムプライマーに対してサンプルシートを編集するための手順が含まれています。
『MiSeq Reporter User Guide』	解析手順、解析ワークフロー、およびMiSeq Reporterによって生成される出力ファイルについての包括的な概要と、コンピューティング要件、装置外インストール手順、およびトラブルシューティング情報が含まれています。
『BlueFuse Multi Reference Guide』	解析手順、解析ワークフロー、およびBlueFuse Multiによって生成されるファイルについての包括的な概要と、コンピューティング要件、およびトラブルシューティング情報が含まれています。このガイドはVeriSeq PGSワークフローとともに使用してください。
『MiSeq Reporter Online Help』	MiSeq Reporterソフトウェアを使用するための手順が含まれています。
『BaseSpace User Guide』	BaseSpaceを使用するための手順と、各解析ワークフローに対して生成されるグラフの説明が含まれています。
『BaseSpace Onsite System Guide』	BaseSpace Onsite Systemを用いるための手順が含まれています。

イルミナのウェブサイトの[support.illumina.com/sequencing/sequencing\\_instruments/miseq.html](https://support.illumina.com/sequencing/sequencing_instruments/miseq.html)にあるMiSeqシステムサポートページを参照してください。文書、ソフトウェアダウンロード、オンライントレーニング、およびFAQについて説明しています。

## コンポーネント

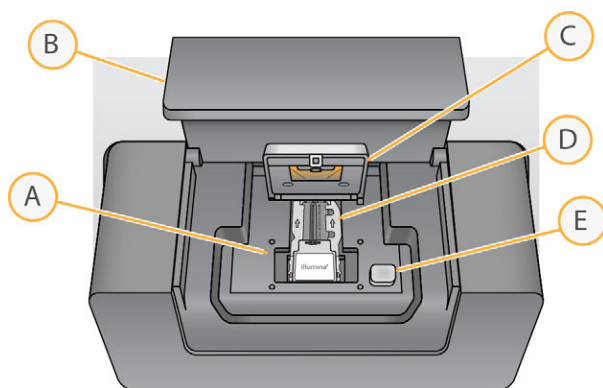
MiSeqには次の外部コンポーネントがあります。



- A **フローセルコンパートメント**：ランを通してフローセルを収納するフローセルステージがあります。フローセルステージモーターは、フローセルをロードするために密閉式光学モジュールの外にステージを移動させ、ランが始まるとステージを戻します。
- B **密閉式光学モジュール**：フローセルのイメージングを可能にする光学的構成物を含みます。
- C **ステータスバー**：装置の状況を3色で示します。青色は装置が処理中であることを示し、オレンジ色は装置に対処が必要なことを示し、緑色は装置が次のランを始める準備が整っていることを示します。
- D **タッチスクリーンモニター**：ソフトウェアインターフェースを用いた装置の構成およびランセットアップを可能にします。
- E **外部USBポート**：タッチスクリーンモニターから装置のコンピューターへファイルおよびデータを容易に移行できます。
- F **試薬コンパートメント**：適正温度の試薬、洗浄溶液、および廃液ボトルを保持します。磁気ラッチが試薬コンパートメントドアを固定します。

MiSeqインターフェースによる手順ガイドに従い、タッチスクリーンモニターを用いてランをセットアップすることができます。ランコンポーネントをロードするには、試薬コンパートメントとフローセルコンパートメントにアクセスする必要があります。

## フローセルコンパートメント

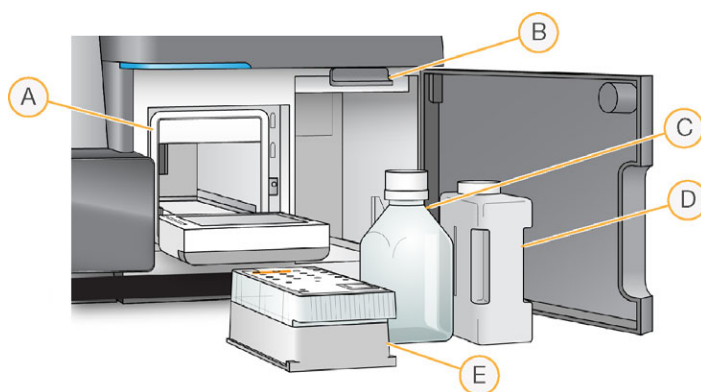


- A フローセルステージ
- B フローセルコンパートメントのドア
- C フローセルラッチ
- D フローセル
- E フローセルラッチ解除ボタン

フローセルコンパートメントは、フローセルステージ、サーマルステーション、そしてフローセルへの送液接続部を収納します。フローセルステージがフローセルを保持し、フローセルラッチがフローセルを設置し、位置を合わせます。フローセルラッチが閉じられると、ラッチヒンジ付近にある2つのピンによってフローセルは自動的に位置決めされます。

フローセルステージの下に位置するサーマルステーションは、クラスター形成およびシーケンスに必要なフローセル温度の変化を管理します。

## 試薬コンパートメント



- A 試薬チラー
- B シッパーハンドル（上げた位置で表示）
- C PR2ボトル
- D 廃液ボトル
- E 試薬カートリッジ

試薬コンパートメント内には、試薬チラーと、洗浄バッファー（PR2）ボトルおよび廃液ボトルをセットする場所があります。一定温度を維持するために、指示された場合に限り、試薬チラーを開閉してください。

試薬チラーでは、ランの実行中に、使い切りの試薬カートリッジを保持できます。装置の洗浄中には、試薬チラーが洗浄トレイを保持します。ソフトウェアの制御によって、行われて

いる処理に応じてラン中の適切な時期に試薬カートリッジの各リザーバーの中にシッパが自動的に下げられます。

試薬チラーの右側には、PR2ボトルと廃液ボトルに形状が合うように作られたスロットがあります。シッパハンドルは所定の位置にボトルを固定し、各ボトルの中に該当するシッパを下げます。試薬はシッパから送液ライン、その後フローセルへ送液されます。処理を通して、試薬の廃液は廃液ボトルに送られます。



## MiSeqの概念

以下の概念および用語はMiSeqのランセットアップステップに共通のものです。

概念	内容説明
解析ワークフロー	MiSeq Reporterにより実行される二次解析手順。各ランに対する解析ワークフローは、サンプルシートで指定されます。
マニフェスト	アライメントのステップで使用されるリファレンスゲノムとターゲットリファレンス領域を指定するファイル。マニフェストを必要とするワークフローの場合は、マニフェストファイルがサンプルシートで指定され、MCSで指定したマニフェストフォルダにコピーされます。
リファレンスゲノム	解析中に使用されるゲノムシーケンスを含むFASTA形式ファイル。ほとんどの解析ワークフローに対しては、リファレンスゲノムファイルがサンプルシートで指定されます。
ランフォルダ	RTAソフトウェアによって格納されるフォルダ構造 (MiSeqOutput フォルダ)、またはMiSeq Reporterによって格納されるフォルダ (MiSeqAnalysis)。詳細については、「ランフォルダ」、80ページを参照してください。
サンプルシート	シーケンスランのセットアップと解析に必要な情報 (サンプルおよびインデックスシーケンスのリストを含む) を格納するカンマ区切り値 (*.csv) ファイル。 サンプルシートはMiSeqのランセットアップステップ中に提供される必要があります。ランが開始すると、サンプルシートは SampleSheet.csv という名前に変更され、ランフォルダ (MiSeqTemp、MiSeqOutput、およびMiSeqAnalysis) にコピーされません。

解析ワークフローおよびマニフェストファイル形式に関する詳細は、『MiSeq Reporter Software Guide (文書番号: 15042295)』を参照してください。

サンプルシートの詳細については、『MiSeq Sample Sheet Quick Reference Guide (文書番号: 15028392)』を参照してください。

## MiSeqソフトウェア





装置のコンピューターには、以下のソフトウェアアプリケーションがあらかじめインストールされています。

- ▶ **MiSeq Control Software(MCS)**：装置の操作をコントロールします。ラン開始前のフローセルと試薬をロードする際に、MiSeq Control Software(MCS)インターフェースが手順を示します。ランが進むにつれて、品質統計値の概要が表示されます。
- ▶ ラン中、MCSはフローセルステージを操作し、試薬を分注し、フローセル温度を管理し、フローセル上のクラスターのイメージを撮像します。MCSは、サンプルシートで指定されているパラメーターに従ってランを実行します。
- ▶ **Real-Time Analysis(RTA)ソフトウェア**：統合ソフトウェアであるReal-Time Analysis(RTA)によって、イメージ解析およびベースコーリングの実行と、サイクルごとの各ベースへのクオリティスコアの割り当てが行われます。イメージは、RTAで処理されるためにランフォルダ内に一時的に格納されますが、RTA解析が完了すると自動的に削除されます。
- ▶ **MiSeq Reporter**：二次解析を行います。MiSeq Reporter解析ソフトウェアは、RTAソフトウェアによって生成されたベースコールを処理し、要求された各ゲノムのアライメント、バリエーション、およびコンティグアセンブリに関する情報を産出します。サンプルシートに指定されている解析ワークフローが、実施される解析のタイプを決定します。詳細については、「MiSeq Reporterの概要」、12ページを参照してください。

装置外で使用するオプションのソフトウェアには、Sequencing Analysis Viewer(SAV)がありません。詳細については、「Sequencing Analysis Viewer」、13ページを参照してください。

## ステータスアイコン

【Home】画面の右上隅には、ランのセットアップ中またはランの実行中に状況が変わったことを通知するステータスアイコンがあります。

ステータスアイコン	ステータス名	内容説明
	ステータスOK	変化なし。システムは正常です。
	注意	重要な情報。措置を講じることを推奨します。
	警告	警告ではランを停止しません。しかし一部の警告では、続ける前に措置を講じる必要があります。
	エラー	エラーは通常、ランを停止し、ほとんどの場合においてランを続行する前に措置を講じる必要があります。

状況に変化があった場合、アイコンは関連するイメージに変わり、点滅して通知を行います。アイコンを選択し、ステータスウィンドウを開き、表示されている状態を確認します。表示される項目を選択し、状態の詳細説明、ならびに該当する場合には状態の解決方法を確認します。

【Acknowledge】を選択してメッセージを受け入れ、【Close】を選択してダイアログボックスを閉じます。

ステータスウィンドウに表示されるメッセージは、ウィンドウの上余白に沿ってアイコンを選択することにより、タイプ別にフィルターできます。アイコンを選択して、状態の表示または非表示を切り替えます。

## アクティビティインジケータ

各インターフェース画面の右下隅には、一連のアイコンがあります。各アイコンは、装置で実行しているアクティビティを示すアクティビティインジケータです。

図1 アクティビティインジケータ



アクティビティインジケータは左から右に以下のアクティビティを表します：

- ▶ Yステージの移動
- ▶ Zステージの移動
- ▶ 電子機器機能の作動
- ▶ カメラの使用
- ▶ 流路システムからの送液

## センサーインジケータ

センサーインジケータは、各インタフェース画面の底部に表示され、装置コンポーネントのステータスを表します。

図2 センサーインジケータ



センサーインジケータは左から右に以下のコンポーネントを表します：

- ▶ フローセルコンパートメントのドアの開閉
- ▶ 試薬チラーの温度 (°C)
- ▶ フローセルの温度 (°C)
- ▶ BaseSpace®への接続のステータス (図では「切断」状態が示されている)

## 二次解析オプション

MiSeqシーケンスデータは、装置のコンピューター上でMiSeq Reporterを用いて、ネットワーク接続のサーバー上でBaseSpace Onsiteを用いて、クラウド上であるいはBaseSpaceを用いて解析することができます。VeriSeq PGSワークフローを実施する場合、解析にはBlueFuse Multiを用いてください。BaseSpace、BaseSpace Onsite、およびMiSeq Reporterは、要求された各ゲノムおよびマルチサンプルランの各サンプルのアライメント、変異、およびコンティグのアセンブリに関する情報を生成します。

### BaseSpaceおよびBaseSpace Onsiteの概要

BaseSpaceは、イルミナのクラウドコンピューティング環境です。BaseSpace Onsiteでは、専用サーバー環境が提供され、ランセットアップツールおよび解析オプションが用意されています。

シーケンスランを設定する場合、BaseSpaceまたはBaseSpace Onsiteにログインしてください。BaseSpaceあるいはBaseSpace Onsiteを用いる場合、ランデータをローカルに保存する追加のオプションがあります。詳細については、「システム設定のカスタマイズ」、21ページを参照してください。

シーケンスランを開始すると、アイコンは、MiSeqがBaseSpaceまたはBaseSpace Onsiteに接続されていることと、データファイルが指定の場所に転送されていることを示すように変更されます。

図3 BaseSpaceアイコンへの接続

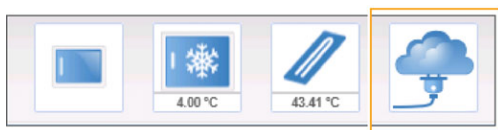
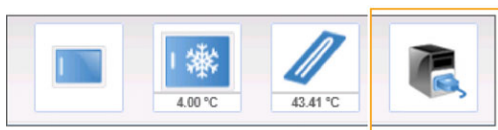


図4 BaseSpace Onsiteアイコンへの接続



BaseSpaceを用いて、データファイルを転送時に暗号化し、解析中に暗号を解除し、格納時に再度暗号化します。BaseSpace Onsiteを用いて、データファイルを転送時に暗号化し、解析中に暗号を解除し、オプションで格納時に再度暗号化することができます。

ランの終了時、またはRTA解析ファイルがすべて転送されると、BaseSpaceまたはBaseSpace OnsiteはMiSeqから自動的に切断されます。インターネット接続が中断された場合は、切断が発生した時点から接続が復元された後にアップロードが続行します。

最新のベースコールファイルがBaseSpaceまたはBaseSpace Onsiteにアップロードされるとすぐにデータの二次解析が開始されます。MiSeq Reporterを使用した装置上の解析と同じ解析ワークフローが、BaseSpaceまたはBaseSpace Onsiteでサポートされます。

MiSeq Reporterのインストールに伴って提供されるゲノムがいくつかあります。BaseSpaceおよびBaseSpace Onsiteは、MiSeq Reporterに含まれるゲノムのみをサポートします。

BaseSpaceにはbasespace.comから接続できます。Mylluminaアカウントでログインしてください。BaseSpaceについての詳細は、『BaseSpace User Guide (文書番号：15044182)』およびイルミナのウェブサイトのBaseSpaceサポートページを参照してください。

BaseSpace Onsiteについての詳細は、『BaseSpace Onsite System Guide (文書番号：15049148)』およびイルミナのウェブサイトのBaseSpace Onsiteサポートページを参照してください。

## MiSeq Reporterの概要

MiSeq Reporterは、RTAソフトウェアによって生成されたベースコールを処理するWindows サービスアプリケーションです。MiSeq Reporterは、RTAソフトウェアによって実行されるシーケンスランの解析完了直後に二次解析を始めます。

MiSeq Reporterは装置のコンピューター上で稼働します。ただし、ソフトウェアインターフェースは、MiSeq Reporterと同じネットワークに接続されている別のコンピューターのウェブブラウザを使用して表示する必要があります。

二次解析が完了すると、CompletedJobInfo.xmlという名前のファイルがランフォルダに書き込まれます。詳細については、『MiSeq Reporter Software Guide（文書番号：15042295）』を参照してください。

### 解析中のシーケンス

MiSeqシステムのコンピューティングリソースは、シーケンスまたは解析のどちらかの利用を想定しています。前のランの二次解析が完了する前に新しいシーケンスランがMiSeqで開始されると、MiSeq Reporterの解析は自動的に停止します。

MiSeq Reporterによる解析を再開するには、新しいシーケンスランの完了後、MiSeq Reporter インターフェースのRequeue機能を用いてください。この時点で、二次解析は最初から開始されます。

## Sequencing Analysis Viewer

イルミナSequencing Analysis Viewer(SAV)を使用すると、ランを妨げることなく、ランをより詳しくモニタリングできます。SAVを用いた一次解析結果を参照するには、お使いのMiSeqがネットワークに接続されている必要があります。

SAVを使用すると、メトリクスが生成されているランの間も、後にランが完了した後もメトリクスを表示できます。SAVは、装置に接続されているのと同じネットワークにアクセス可能なMiSeqとは別のコンピューターにインストールしてください。ソフトウェアの起動後に、ランに対する出力フォルダを参照してください。

テンプレート形成後で、SAVは、RTAIによって生成されたメトリクスにより、プロット、グラフ、および表を準備します。



### 注意

SAVはイルミナシーケンスシステム（大半は8レーンフローセルを使用）すべてで利用可能です。一部のビューには、レーン1~8を表示したドロップダウンリストが含まれます。MiSeqフローセルはシングルレーンであるため、**[All]** または **[Lane 1]** を選択します。

詳細については、『Sequencing Analysis Viewer User Guide（文書番号：15020619）』を参照してください。

## 必要なディスク領域

装置に組み込まれているコンピューターは約550GBの記憶容量を持っています。

ランを開始する前に、ソフトウェアが利用可能なディスク領域を確認します。ランに十分なディスク領域がない場合は、ソフトウェアのプロンプトが表示されます。メッセージは、ランに必要なディスク領域および、ラン実行前に消去すべきディスク領域を示します。

利用可能なディスク領域を確保するよう要求された場合は、古いランフォルダを適宜移動または削除してください。詳細については、「ファイルの管理」、59ページを参照してください。十分なディスク領域を消去した後、**[Restart Check]** を選択します。



## MiSeq Reagent Kitの概要

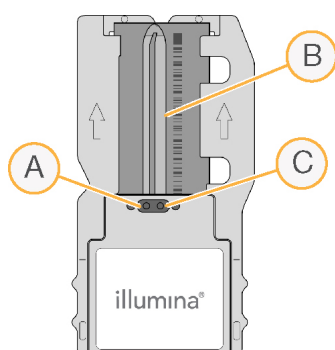
MiSeqでランを実行するには、使い切りのMiSeq Reagent Kitが必要です。こちらはさまざまなタイプおよびサイズがあります。MiSeq Reagent Kitの各タイプには、キットに固有なフローセルタイプと、1回のランの実行に必要な試薬がすべて含まれています。

消耗品を正確に追跡し、互換性を保つために、キットに含まれているフローセル、PR2ボトル、および試薬カートリッジにはRFID（無線自動識別）が使用されています。

必ずフローセルタイプに関連付けられている試薬カートリッジを使用してください。試薬カートリッジに互換性がない場合は、ランセットアップのステップ中にメッセージが表示され、互換性のある試薬カートリッジをロードするように要求されます。

利用可能な試薬キットの詳細については、イルミナのウェブサイトの [support.illumina.com/sequencing/sequencing\\_kits/miseq\\_reagent\\_kit.html](http://support.illumina.com/sequencing/sequencing_kits/miseq_reagent_kit.html) を参照してください。

### フローセル



- A アウトレットポート
- B イメージング領域
- C インレットポート

MiSeqフローセルは、クラスターが形成され、シーケンス反応が行われる使い切りのガラスをベースとした基質です。

試薬は、インレットポートを通じてフローセルへと入り、シングルレーンイメージング領域を通過した後、アウトレットポートを通じてフローセルから排出されます。フローセルを出た廃棄物は廃液ボトルに送られます。

ライブラリーは、ランのセットアップ前に試薬カートリッジにロードされ、ランの開始後にフローセルへと自動的に流入されます。

## フローセルのキャップの色

フローセル容器のキャップの色によって、フローセルタイプがわかるようになっています。

フローセル	フローセルのキャップの色
標準フローセル PGSフローセル	透明
マイクロフローセル	緑
ナノフローセル	黄色

## 試薬カートリッジの概要

MiSeq試薬カートリッジは使い切りの消耗品で、ホイルで密閉されたリザーバーを持っています。リザーバーには1つのフローセルのシーケンスに十分なクラスター試薬およびシーケンス試薬があらかじめ充填されています。

カートリッジの各リザーバーには、番号が付けられています。サンプルライブラリーは、カートリッジの位置17（[Load Samples] と表記されている）にロードされます。



### 警告

この試薬のセットには、生殖毒性がある可能性の高い脂肪族アミドであるホルムアミドを含みます。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。目を保護するもの、手袋、ラボ用衣服など、保護服を着用してください。化学廃棄物などの使用済み試薬を処理および廃棄する際には、各地域の法令で定められた安全基準に従ってください。環境、健康、安全性に関する情報については、[support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html)にある本キットのSDSを参照してください。

## 指定のリザーバー

図5 番号付きリザーバーを用いた試薬カートリッジ

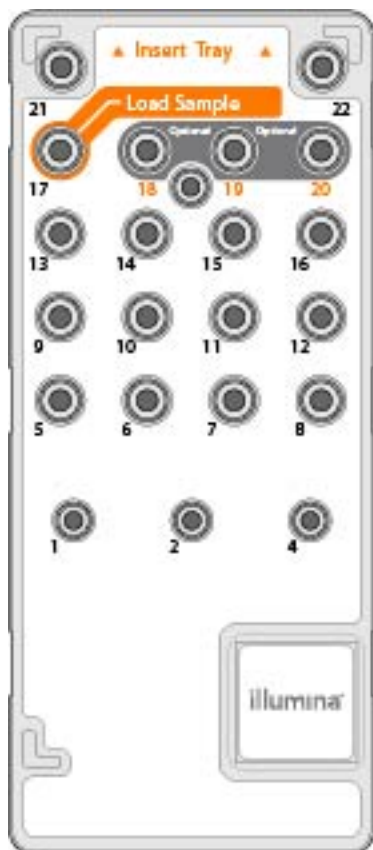


表1 試薬カートリッジリザーバー

位置	試薬名	内容説明
8	LDR	変性試薬（ホルムアミド）
17	予備	<b>Load Sample</b> （サンプルライブラリー用の予備）
18	予備	カスタムRead 1プライマーのための予備（オプション）
19	予備	カスタムIndex Readプライマーのための予備（オプション）
20	予備	カスタムRead 2プライマーのための予備（オプション）



## 注意

MiSeq試薬カートリッジでカスタムプライマーを用いることについての詳細は、『Using Custom Primers on the MiSeq（文書番号：15041638）』を参照してください。



# はじめに

MiSeqの起動 .....	20
システム設定のカスタマイズ .....	21
BaseSpace最新版の設定通知 .....	22
電子メールの優先度の設定 .....	22
フォルダのデフォルトの場所設定 .....	23
ユーザーが用意する消耗品 .....	24



## MiSeqの起動

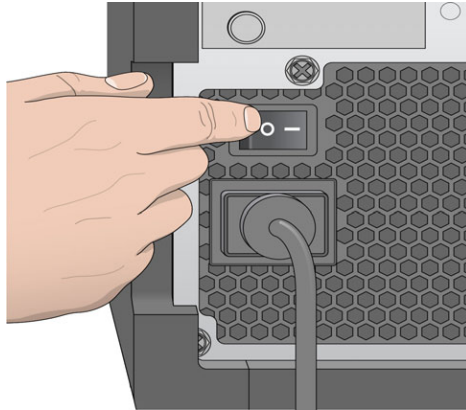


### 注意

パフォーマンスを最善にするには、装置を常時ONにしておいてください。しかし、装置の電源を切る必要がある場合は、「装置のシャットダウン」、62ページを参照してください。60秒以上経過後、電源スイッチをONポジションに戻します。

- 1 MiSeqがまだONではない場合、装置の右側後ろに手を回し、バックパネルにある電源スイッチを探します。電源コード真上の下の隅にあります。

図6 電源スイッチの場所



- 2 主電源スイッチをONの位置にします。装置に組み込まれているコンピューターが起動します。
- 3 デフォルトのユーザー名とパスワードを使用して、オペレーティングシステムにログインします。
  - ▶ ユーザー名：sbsuser
  - ▶ パスワード：sbs123オペレーティングシステムが読み込みを終えるまで待ちます。システムの準備が完了すると、MiSeq Control Software(MCS)はシステムを自動的に起動し、イニシャライズします。イニシャライズのステップが完了すると、[Home] 画面が表示されます。

## システム設定のカスタマイズ

- 1 [Home] 画面から [Run Options] を選択します。
- 2 [Run Settings] タブを選択します。
- 3 [Post Run Wash] または [Maintenance Wash] を選択します。  
各ランの終了後には装置洗浄が必要です。ソフトウェアは後続のランをセットアップする前に洗浄を実施することを要求します。[Post-Run Wash Option] では、デフォルトで実施される洗浄のタイプを指定します。ラン後の洗浄の所要時間は約30分です。メンテナンス洗浄には約1時間かかります。
- 4 BaseSpace Onsiteサーバーロケーションのアドレスを入力します。  
BaseSpace Onsiteを用いる場合、[BaseSpace Onsite Server] 設定が必要です。
- 5 [Send instrument health information to Illumina to aid technical support] を選択するか、または選択を外します。  
[Send Instrument Health] は、イルミナのテクニカルサポートが問題の可能性についてトラブルシューティングしやすくするためのオプションです。イルミナに送信されるのはログファイルのみです (InterOp ファイルおよびログファイル)。この機能を使用するには、インターネットにアクセスできるネットワークに装置が接続されている必要があります。
- 6 [When using BaseSpace or BaseSpace Onsite, replicate analysis locally on MiSeq] を選択するか、または選択を外します。  
[Replicate Analysis Locally] 設定では、BaseSpace OnsiteまたはBaseSpace Onsiteを使用する場合に、解析処理を行う場所を指定します。この設定では、BaseSpace OnsiteまたはBaseSpace Onsite双方の場合に、ローカルで解析するオプションが提供されます。  
BaseSpace OnsiteまたはBaseSpace Onsiteを使用している場合に、このオプションを選択すると、ラン後にMiSeq Reporterが自動的に起動し、ローカルで解析が実行されます。  
BaseSpace OnsiteまたはBaseSpace Onsiteを使用している場合に、このオプションを選択しないと、ラン後にMiSeq Reporterは自動的に起動せず、BaseSpace OnsiteまたはBaseSpace Onsiteでのみ解析が実行されます。  
BlueFuse Multiを用いてVeriSeq PGSワークフローを実施する場合は、このオプションを選択してください。

## BaseSpace最新版の設定通知

- 1 [Home] 画面から [Manage Instrument] を選択します。
- 2 [Software Update] を選択します。
- 3 [Automatically check for new software updates on BaseSpace] を選択します。

## 電子メールの優先度の設定

MiSeqでは、RTA解析の完了時、装置上の二次解析の完了時、あるいはMiSeqソフトウェアに重大なエラーが発生した場合に、電子メール通知を送信するよう設定できます。

- 1 [Home] 画面から [Run Options] を選択します。
- 2 [Folder Settings] タブを選択します。
- 3 以下の情報を入力します：
  - ▶ **Local SMTP email server address**：画面上のキーボードを使用して、ローカルSMTP電子メールサーバーアドレスを入力します。必要に応じて、施設の管理者にアドレス情報をお問い合わせください。
  - ▶ **Sender email address**：画面上のキーボードを使用して、送信元の電子メールアドレスを入力します。このアドレスは、電子メール通知を送信するために指定するもので、ご自身の電子メールアドレスなどになります。送信元の電子メールアドレスは電子メールサーバーアドレスと同じドメイン名でなければなりません。
  - ▶ **Email addresses**：画面上のキーボードを使用して、通知を受け取る各送信先の電子メールアドレスを入力します。各電子メールアドレスをコンマで区切ります。[Test] を選択して、通知受信者にテスト電子メールを送信します。
  - ▶ **Notify via email when**：通知の条件となるそれぞれのランイベントのチェックボックスにチェックを入れます。



## フォルダのデフォルトの場所設定

フォルダはローカルネットワーク上または装置のコンピューター上に置くことができます。

- 1 [Home] 画面から [Run Options] を選択します。
- 2 [Folder Settings] タブを選択します。
- 3 次のフォルダのデフォルトの場所を入力します。
  - ▶ **Recipes** : レシピのデフォルトの場所を設定します。レシピは、シーケンスランを実施するためにソフトウェアが使用するXMLファイルです。レシピはサンプルシートのパラメーターに基づいて、ランの開始時に作成されてから、出力フォルダにコピーされます。
  - ▶ **Sample Sheets** : サンプルシートのデフォルトの場所を設定します。サンプルシートはライブラリー調製前に作成され、ランのパラメーターを含んでいます。
  - ▶ **Manifests** : ライブラリータイプの一部ではマニフェストファイルが必要です。サンプル調製キットのサンプル調製文書に加えて、『Sample Sheet Quick Reference Guide (文書番号: 15028392)』を参照してください。
  - ▶ **MiSeqOutput** : 解析出力ファイルのデフォルトの場所を設定します。共有、長期保存、およびオプションでMiSeq Reporterをオフラインで使用するために、デフォルト出力フォルダの場所をネットワークに変更します。詳細については、「ランフォルダ」、80ページを参照してください。

## ユーザーが用意する消耗品

ランを開始する前に、ユーザーが用意する消耗品がすべてあることを確認してください。

消耗品	サプライヤー	目的
ストック 1.0 N NaOH 分子生物学グレード	一般的なラボ用品サプライヤー	サンプルライブラリーとPhiXコントロールDNAの変性
アルコールワイプ、 70%イソプロピル または 70%エタノール	VWR、カタログ番号： 95041-714*  一般的なラボ用品サプライヤー	フローセルホルダーの洗浄
使い捨て手袋、パウ ダーフリー	一般的なラボ用品サプライヤー	一般用途
ラボ用リントフリー 紙	VWR、カタログ番号： 21905-026*	フローセルステージおよびロードサンプルリザーバーを覆っているホイルシールの洗浄
レンズペーパー、4x6 インチ	VWR、カタログ番号： 52846-001*	フローセルの洗浄
微小遠心管	一般的なラボ用品サプライヤー	サンプルライブラリーおよびPhiXコントロールDNAの変性および希釈
MiSeqチューブ	イルミナ、パーツ番号： MS-102-9999	テンプレートラインの洗浄用、VeriSeq PGSワークフローで使用（その他のワークフローではオプション）
NaOCl、5%	Sigma-Aldrich (カタログ番号 239305*)	テンプレートラインの洗浄用、VeriSeq PGSワークフローで使用（その他のワークフローではオプション）
Tween 20	Sigma-Aldrich、カタログ番号： P7949	装置の洗浄
ピンセット、スクエ アチッププラスチック (オプション)	McMaster-Carr、カタログ番号： 7003A22*	フローセル輸送容器からのフローセルの取り出し
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	装置の洗浄

\*またはラボラトリーグレードの同等品

## ラボラトリーグレード水のガイドライン

必ずラボラトリーグレード水を使用して装置手順を実行してください。水道水または脱イオン水は決して使用しないでください。許容可能なラボラトリーグレード水は以下のとおりです。

- ▶ イルミナPW1
- ▶ 18メガオーム (MΩ) 水
- ▶ Milli-Q水
- ▶ Super-Q水
- ▶ 分子生物学グレード水



# シーケンス

はじめに .....	28
ラン実行時間 .....	29
MiSeqワークフロー .....	30
試薬カートリッジの融解 .....	32
試薬カートリッジの点検 .....	33
ライブラリーの変性と希釈 .....	34
サンプルライブラリーのロード .....	35
MCSを使用したランのセットアップ .....	36
フローセルの洗浄 .....	37
フローセルの装着 .....	39
試薬のロード .....	41
ランの開始 .....	44
ランのモニタリング .....	45
ラン後の洗浄の実施 .....	47



## はじめに

MiSeqでランを行うには、本章で説明するセットアップの手順に従ってください。ランが始まると、他のユーザーの介入は一切必要ありません。

シーケンスランは [Sequencing] 画面からモニタリングしたり、Sequencing Analysis Viewer (SAV) (イルミナのウェブサイトからダウンロードできるオプションのソフトウェアアプリケーション) を使用してリモートでモニタリングしたりすることができます。

シーケンスランが完了した後、装置の洗浄を行います。

## ラン実行時間

ラン実行時間は、サイクル数によって異なります。MCSv2.3ではペアエンドランを最大2x301シーケンスサイクルおよび任意のIndex Readを実行できます。

また、ラン実行時間は、使用しているMiSeq試薬のバージョンおよび装置にインストールされている任意の性能拡張アップグレードに依存します。

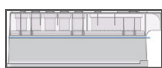
予測される実行時間および他の仕様については、イルミナのウェブサイトにあるMiSeqシステム仕様のページ ([www.illumina.com/systems/miseq/performance\\_specifications.ilmn](http://www.illumina.com/systems/miseq/performance_specifications.ilmn)) を参照してください。

### 1リード内のサイクル数

リードで行われるサイクル数は、解析されるサイクル数より1サイクル多くなります。追加のサイクルはフェージングおよびプレフェージングの計算に必要です。

たとえば、300サイクルの1つのペアエンドランでは、合計602サイクルに対して2つのリードで301サイクル (2x301) を実施します。ランの終了時に、2x300サイクルが解析されます。

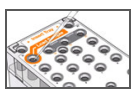
## MiSeqワークフロー



試薬が充填されたカートリッジの使用準備を行います。



ライブラリーを変性させて希釈します（全ライブラリータイプに適用されるわけではありません）。『Preparing Libraries for Sequencing on the MiSeq（文書番号：15039740）』を参照してください。



試薬カートリッジの指定のリザーバーにライブラリーミックスをロードします。



ソフトウェアインターフェースで **[Sequence]** を選択し、ランセットアップのステップを開始します。  
（オプション）BaseSpaceあるいはBaseSpace Onsiteに接続します。



フローセルを洗浄し、完全に乾燥させます。  
フローセルをロードします。



PR2ボトルをロードし、廃液ボトルが空であることを確認します。  
試薬カートリッジをロードします。



ランパラメータおよびプレランチェック結果を見直します。  
**[Start Run]** を選択します。



MCSインターフェースを使用するか、または別のコンピューターで Sequencing Analysis Viewer(SAV)を使用し、ランをモニタリングします。



ラン後の洗浄を行います。

## クラスター形成

クラスター形成中に、単一DNA分子がフローセルの表面に結合され、クラスターを形成するためにブリッジ増幅されます。



## シーケンス

クラスター形成後に、4つの蛍光標識された各ジデオキシヌクレオチドに固有であるLEDとフィルターの組み合わせを使用して、クラスターがイメージ化されます。1つのタイルのイメージングが完了すると、次のタイルのイメージングが行われるようにフローセルは移動されます。このプロセスは各シーケンスサイクルで繰り返し行われます。イメージ解析に続いて、ソフトウェアがベースコーリング、フィルタリング、およびクオリティスコアリングなどの一次解析を行います。

## 解析

ランが完了すると、MiSeq Reporter解析ソフトウェアが自動的に起動し、二次解析（アライメントや変異コーリングを含む）が実行されます。二次解析は、別のコンピューターからインターネット接続を介してモニタリングできます。詳細については、「MiSeq Reporterの概要」、12ページを参照してください。

## 試薬カートリッジの融解

以下の説明では、室温の水槽を用いて試薬カートリッジを融解する方法を説明します。

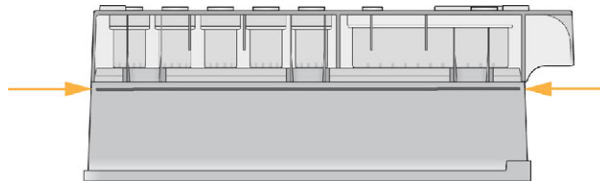


### 注意

あるいは、2℃～8℃の保存状態から一晩かけて試薬を融解することもできます。試薬はこの温度で保管すると、1週間まで安定しています。

- 1 -25℃～-15℃の保存状態から試薬カートリッジを取り出します。
- 2 試薬カートリッジの底がつかのりに十分なだけの室温の脱イオン水が入っている水槽に、試薬カートリッジを置きます。水が試薬カートリッジに印刷されている最高水位線 (Maximum Water Line) を超えないようにしてください。

図7 最高水位線



- 3 完全に融解されるまで、室温の水槽内で試薬カートリッジを融解させます。
  - ▶ MiSeq v3カートリッジ：約60～90分。
  - ▶ MiSeq v2カートリッジ：約60分。
- 4 水槽からカートリッジを取り出し、作業台上で優しく叩き、カートリッジの下部から水を除去します。カートリッジの下部を乾燥させます。

## 試薬カートリッジの点検

- 1 試薬カートリッジを10回転倒混和し、融解された試薬を混ぜ合わせ、すべての位置で融解されていることを検査します。
- 2 位置1、2、および4の試薬を点検し、完全に混ざっていて、沈殿がないことを確認します。
- 3 作業台上でカートリッジを優しく叩き、試薬中の気泡を減らします。



### 注意

MiSeqシッパーチューブは、試薬を吸引する際、各リザーバーの底部に入られます。そのため、リザーバーに気泡がないようにすることが重要になります。

- 4 ランをセットアップする準備ができるまで、試薬カートリッジは最長6時間氷の上に置いておくか、または2°C~8°Cで保管しておきます。最良の結果を得るために、サンプルをロードしてランをセットアップする手順へと直接進みます。



### 警告

この試薬のセットには、生殖毒性がある可能性の高い脂肪族アミドであるホルムアミドを含みます。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。目を保護するもの、手袋、ラボ用衣服など、保護服を着用してください。地域の行政安全基準に従って、化学廃棄物などの使用済み試薬を処理および廃棄します。環境、健康、安全性に関する情報については、[support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html)にある本キットのSDSを参照してください。

## ライブラリーの変性と希釈

ライブラリータイプに必要な場合は、ライブラリーを変性させて希釈し、オプションのPhiXコントロールを添加します。『Preparing Libraries for Sequencing on the MiSeq（文書番号：15039740）』を参照してください。VeriSeq PGSワークフローを実行する場合は、『VeriSeq PGS Library Preparation Guide（文書番号：15052877）』を参照してください。

**このステップは、全ライブラリータイプに適用されるわけではありません。**一部のイルミナサンプル調製方法では、ノーマライズされた濃度のプーリングされたライブラリーが用意されるため、そのまま使用できます。サンプルライブラリーを調製するために使用するキットについては、サンプル調製ガイドを参照してください。



### 注意

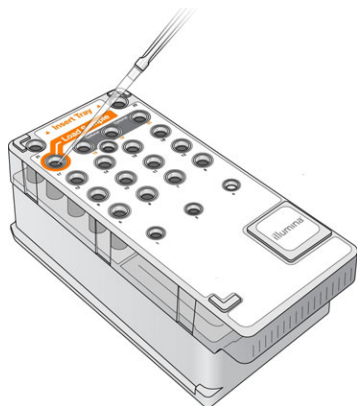
カスタムプライマーを使用する場合は、『Using Custom Primers on the MiSeq（文書番号：15041638）』で説明されているとおりに、プライマーの調製とサンプルシートのセットアップを行ってください。

## サンプルライブラリーのロード

試薬カートリッジを完全に融解し、使用する準備ができれば、調製したライブラリーをカートリッジにロードすることができます。

- 1 ラボ用リントフリー紙付きの、[Load Samples] と表記されているリザーバーを覆っているホイルシールを洗浄します。
- 2 清潔な1mLピペットを使用してホイルシールに穴を開けます。
- 3 調製されたライブラリー600  $\mu$ Lをピペットで [Load Samples] リザーバーに入れます。ホイルシールには触れないでください。

図8 ライブラリーのロード



- 4 MiSeq Control Software(MCS)インターフェースを用いて、ランセットアップに直接進みます。

## MCSを使用したランのセットアップ

- 1 [Home] 画面から [Manage Instrument] を選択します。
- 2 [Reboot] を選択し、システムソフトウェアを再起動します。
- 3 (オプション) [Run Options] 画面で、レシピ、サンプルシート、マニフェスト、およびMiSeqOutputフォルダの場所をチェックします。詳細については、「フォルダのデフォルトの場所設定」、23ページを参照してください。
- 4 [Home] 画面から、[Sequence] を選択して、ランセットアップステップを開始します。[BaseSpace Option] 画面が開きます。  
[Home] 画面にある [Sequence] を選択すると、[BaseSpace Option]、[Load Flow Cell]、[Load Reagents]、[Review]、および [Pre-Run Check] という一連のランセットアップ画面が順に開きます。

## BaseSpaceまたはBaseSpace Onsiteオプションの設定

- 1 [BaseSpace Options] 画面から、[Use BaseSpace for storage and analysis] および [Use BaseSpace Onsite for storage and analysis] チェックボックスにチェックを入れるか、チェックをはずします。
- 2 [Next] を選択します。

## フローセルの洗浄

- 1 新しいパウダーフリー手袋をつけます。
- 2 プラスチックピンセットを使用して、プラスチックカートリッジの下部でフローセルを掴み、フローセル容器から取り出します。

図9 フローセルの取り出し



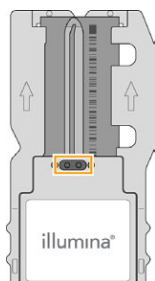
- 3 ラボラトリーグレード水を使用してフローセルを軽くすすぎます。ガラスとプラスチックのカートリッジの両方から余分な塩分を完全に洗い流すまですすぎます。余分な塩分は、装置に据え付けられているフローセルに影響を及ぼす可能性があります。イメージング領域で塩分が乾燥すると、イメージングにも影響する可能性があります。

図10 フローセルのすすぎ



- 4 黒色のフローセルポートガスケット付近に注意しながら、レンズクリーニング用リントフリー紙を使用してフローセルとカートリッジを拭き、完全に乾かします。ガスケットおよび隣接するガラスの領域で優しく叩いて乾燥させます。

図11 フローセルポートおよびガスケット



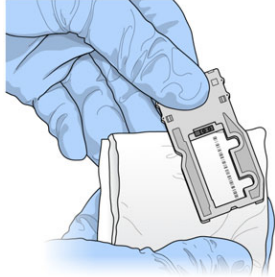
- 5 フローセルガラスをアルコールワイプで洗浄します。ガラスに条痕、指紋、および細かいごみまたはティッシュ繊維がないことを確認します。



注意

フローセルポートガスケットにはアルコールワイプを使用しないでください。

図12 フローセルの乾燥



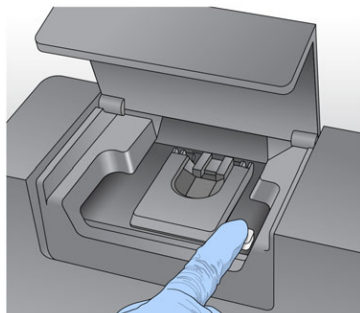
- 6 レンズクリーニング用リントフリー紙で余分なアルコールを拭き取ります。
- 7 フローセルポートが塞がれていないことと、ガスケットがフローセルポート周囲に適切に設置されていることを確認します。  
ガスケットが外れそうに見える場合、フローセルポート周辺にしっかりと収まるまで所定の位置に優しく押し戻します。



## フローセルの装着

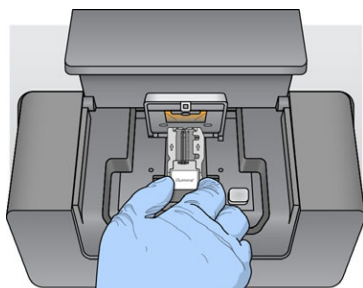
- 1 フローセルコンパートメントドアを上げてフローセルラッチ右の解除ボタンを押します。フローセルラッチが開きます。

図13 フローセルラッチを開く



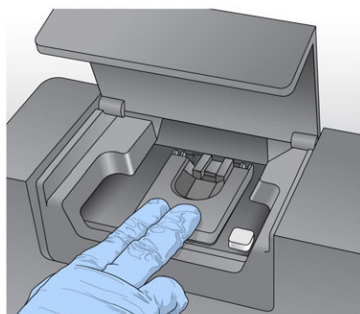
- 2 フローセルステージに細かいごみがないことを確認します。細かいごみまたはその他の残屑が存在する場合、エタノールまたはイソプロパノールで湿らせたアルコールワイプまたはリントフリー紙を用いてフローセルステージを洗浄します。清潔になり、乾燥するまで、フローセルステージの表面を慎重に拭き取ります。
- 3 フローセルの端を保持して、フローセルステージに置きます。

図14 ステージへのフローセルの設置



- 4 フローセルラッチを優しく押し下げ、フローセルの上で閉じます。フローセルラッチが閉じたら、アライメントピンでフローセルの位置を調節します。カチッと音がして、フローセルラッチが固定されます。

図15 フローセルラッチを閉じる



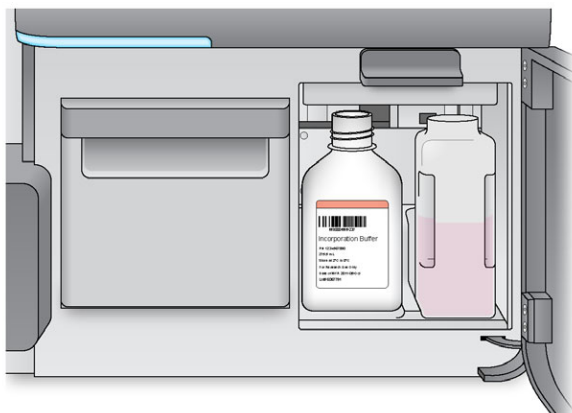
- 5 ソフトウェアがフローセルのRFIDを検出しない場合は、「RFIDリードエラーの解決」、71ページを参照してください。
- 6 フローセルコンパートメントのドアを閉じます。
- 7 [Next] を選択します。

## 試薬のロード

### PR2のロードおよび廃液ボトルのチェック

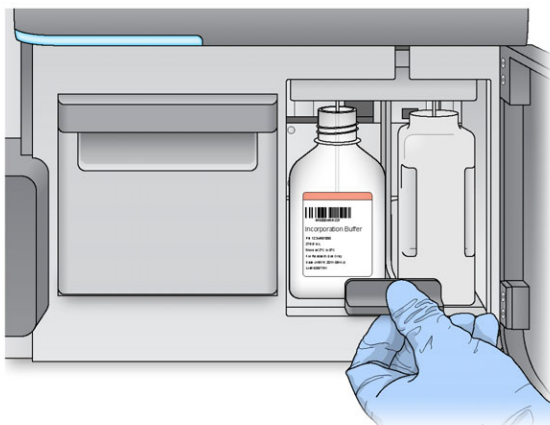
- 1 2°~8°Cの保存状態からPR2のボトルを取り出します。転倒混和し蓋を取り外します。
- 2 試薬コンパートメントドアを開けます。
- 3 シッパーハンドルが所定の位置で固定されるまで、シッパーハンドルを上げます。
- 4 洗浄ボトルを取り外し、PR2ボトルをロードします。

図16 PR2ボトルのロード



- 5 廃液ボトルの中身を適切な廃液容器に出して空にします。
- 6 シッパーハンドルをゆっくりと下げます。シッパーがPR2ボトルと廃液ボトルの中に下がっていることを確認してください。

図17 シッパーハンドルを下げる



- 7 ソフトウェアがPR2ボトルのRFIDを検出しない場合は、「RFIDリードエラーの解決」、71ページを参照してください。
- 8 [Next] を選択します。

## 試薬カートリッジのロード

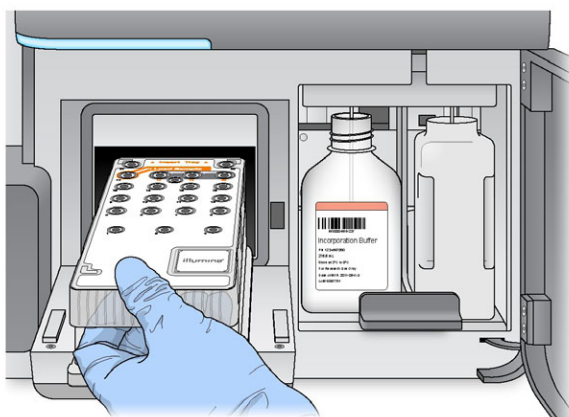


### 注意

試薬チャロードアを長時間開けたままにしないでください。

- 1 試薬チャロードアを開けます。
- 2 イルミナラベルの付いた方の試薬カートリッジの端を持ち、試薬カートリッジをカートリッジが止まるまで試薬チャラーの中にスライドさせて入れます。  
ロードしたフローセルのタイプに関連付けられている試薬カートリッジを必ず使用します。試薬カートリッジに互換性がない場合は、メッセージが画面に表示されます。  
[Back] を選択し、適切な試薬カートリッジをロードするか、[Exit] を選択して [Home] 画面に戻ります。

図18 試薬カートリッジのロード



- 3 試薬チャロードアを閉じます。
- 4 ソフトウェアが試薬カートリッジのRFIDを検出しない場合は、「RFIDリードエラーの解決」、71ページを参照してください。
- 5 試薬カートリッジにフローセルとの互換性がない場合は、メッセージが表示されます。  
[Back] を選択し、互換性のあるカートリッジをロードするか、[Exit] を選択して [Home] 画面に戻ります。
- 6 試薬コンパートメントドアを閉じます。
- 7 [Next] を選択します。
- 8 別のサンプルシートを選択するよう要求された場合は、「サンプルシートの変更」、42ページを参照してください。

## サンプルシートの変更

[Change Sample Sheet] コマンドを選択して以下を行います。

- ▶ 試薬カートリッジのバーコード番号と一致しない名前のサンプルシートを選択
- ▶ [Review] 画面上で別のサンプルシートの選択を指示するメッセージが表示された場合ラン毎にサンプルシートを用意する必要があります。デフォルトでは、装置にロードされた試薬カートリッジのバーコード番号に一致する名前のサンプルシートファイルをソフトウェアが検索します。サンプルシートが見つからなかった場合、ランに対して正しいサンプルシートの場所を参照するよう指示するメッセージが表示されます。

ソフトウェアが検索に失敗しないように、[Load Reagents] 画面の [Change Sample Sheet] コマンドを使用して、ソフトウェアに該当するサンプルシートを指示します。

- 1 [Load Reagents] 画面の [Change Sample Sheet] を選択します。
- 2 [Browse] を選択し、サンプルシートに移動します。
- 3 [Open] を選択します。
- 4 [Save and Continue] を選択します。
- 5 [Next] を選択します。

## ランの開始

フローセルと試薬をロードしたら、ランを開始する前にランパラメーターの見直しとプレランチェックを実行してください。

### ランパラメーターの見直し

- 1 実験名、解析ワークフロー、およびリードの長さを見直します。これらのパラメータはサンプルシートに指定されています。
- 2 左下隅でフォルダの場所を見直します。  
変更が必要な場合は、[Change Folders] を選択します。変更が完了したら、[Save] を選択して、[Next] を選択します。
- 3 [Next] を選択します。[Pre-Run Check] 画面が開きます。

### フォルダの変更

[Review] 画面の左下隅に、レシピ、サンプルシート、マニフェスト、および出力フォルダの現在のフォルダの場所が一覧表示されます。フォルダの場所を変更するには、[Change Folders] を選択し、希望する場所を参照します。[Review] 画面からこのオプションを使用することで、現在のランに対してのみのフォルダの場所を変更します。

### プレランチェックの見直し

システムは、ランを開始する前にすべてのランコンポーネント、ディスク領域、およびネットワーク接続のチェックを行います。

いずれかの項目にランの前チェックで問題がある場合は、エラーの修正方法を説明するメッセージが画面に表示されます。詳細については、「ランセットアップエラーの解決」、70ページを参照してください。

ランの前チェックですべての項目に問題がなければ、[Start Run] を選択します。

### ラン開始前の重要な注意事項



#### 警告

MiSeqは振動に敏感です。ランを開始した後に装置に触れると、シーケンス結果に悪影響を及ぼす可能性があります。

[Start Run] を選択した後、フローセルコンパートメントまたは試薬コンパートメントのドアを開けたり、ランの一時停止を除いて装置モニターに触れたりしないでください。詳細については、「ランの一時停止」、68ページを参照してください。

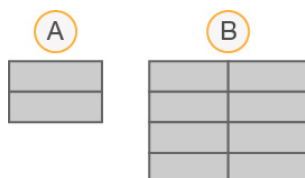


#### 警告

ラン開始前にはMiSeq上の全ファイルを必ず閉じ、ランの最中はファイルを開かないでください。

## ランのモニタリング

- ランの実行中に、[Sequencing] 画面に表示されるランの進捗状況、蛍光強度、およびクオリティスコアをモニタリングします。[Sequencing] 画面は表示専用です。ランをより詳細にモニタリングするには、装置のコンピューターとは独立して別のコンピューターにインストールされているSequencing Analysis Viewer(SAV)を使用します。ネットワーク接続が必要です。  
または、BaseSpaceに接続している場合は、BaseSpaceでSAVを使用してランをモニタリングすることもできます。
  - ▶ **Run Progress** : ステータスバーにランの進捗を示し、完了したサイクル数を一覧表示します。
  - ▶ **Intensity** : 各タイルの90パーセントのクラスター強度値を示します。蛍光強度領域のグラフは、イメージ化されるタイルの数とサーフェースの数を表しています。
  - ▶ フローセルが上面でのみイメージ化される場合は、1列のグラフが表示されます。
  - ▶ フローセルが上面と底面でイメージ化される場合は、2列のグラフが表示されます。



- A 2タイル、上面のみを示す  
B 4タイル、上面と底面を示す

- ▶ **Q-Score All Cycles** : クオリティスコア (Qスコア) がQ30を超えた値の平均パーセントを表示します。Qスコアは誤ったベースコールの確率の予測です。25サイクル後にQスコアが計算されます。

Qスコア	誤ったベースコールの確率
Q40	10,000分の1
Q30	1,000分の1
Q20	100分の1
Q10	10分の1

- ▶ **Cluster Density (K/mm<sup>2</sup>)** : ランの平方ミリメートルあたりのクラスターの数を示します。
- ▶ **Clusters Passing Filter (%)** : イルミナのchastityフィルターに基づいてパスフィルターしたクラスターのパーセンテージを示します。これによって、品質を測定します。25サイクル後に、このデータが表示されます。



### 注意

ベースコールのChastityとは、最大シグナルの強度を、最大2番目に強いシグナル強度の和で除算することによって計算された比率です。最初の25サイクルでChastityの値が0.6未満であるベースコールが2つ以上ある場合、リードはクオリティフィルターを通過しません。

- ▶ **Estimated Yield (Mb)** : メガ塩基対で測定した、ランでコールされるベースの予測数を表示します。25サイクル後に、このデータが表示されます。

- 2 ランが完了すると、[Next] ボタンが表示されます。次へ進む前に [Sequencing] 画面で結果を見直します。



**注意**

[Next] を選択するまで、[Sequencing] 画面は表示されたままです。[Next] を選択した後は、[Sequencing] 画面に戻ることはできません。

- 3 [Next] を選択して [Sequencing] 画面を終了し、ラン後の洗浄に進みます。

## テンプレート形成

テンプレート形成とは、フローセル表面全体におけるクラスターの位置がX座標位置とY座標位置に従って定義されるプロセスです。Real-Time Analysis(RTA)では、テンプレート形成のために、ランの最初のサイクルが使用されます。

クラスター位置のテンプレートが生成されると、後続するイメージングの各サイクルで作成されたイメージはテンプレートに対してアラインされます。4つのヌクレオチドのカラーチャンネルすべてにおいて個々のクラスター強度が抽出され、ノーマライズされたクラスター強度からベースコールが生成されます。

## ランメトリクス

ランのさまざまな時点で、ランメトリクスが [Sequencing] 画面に表示されます。クラスター形成手順の間、メトリクスは表示されません。

シーケンスが始まった後、指示サイクルで以下のメトリクスが表示されます：

メトリクス	キット	サイクル
強度	MiSeq Reagent Kits, v3 MiSeq Reagent Kits, v2 MiSeq Reagent Kits, v1	サイクル1~7 サイクル1~4 サイクル1~4
強度およびクラスター密度	MiSeq Reagent Kits, v3 MiSeq Reagent Kits, v2 MiSeq Reagent Kits, v1	サイクル8~25 サイクル5~25 サイクル5~25
強度、クラスター密度、% PF、収率およびQスコア	MiSeq Reagent Kits, v3 MiSeq Reagent Kits, v2 MiSeq Reagent Kits, v1	サイクル26からラン完了まで

MiSeqランの仕様については、イルミナのウェブサイトにあるMiSeqシステム仕様のページ ([www.illumina.com/systems/miseq/performance\\_specifications.ilmn](http://www.illumina.com/systems/miseq/performance_specifications.ilmn)) を参照してください。

## RTA解析結果

シーケンスランからのRTA解析出力は、クオリティスコア化されたベースコールファイル (\*.bcl) のセットです。ベースコールファイルはrawイメージファイルから生成されます。RTAファイルとフォルダのリストについては、「RTAフォルダおよびファイル」、82ページを参照してください。



## ラン後の洗浄の実施

ラン後の洗浄はシーケンスランの間で行われる標準の装置洗浄です。ランが完了したら、装置の洗浄を必ず実施してください。ソフトウェアのプロンプトに従って、洗浄コンポーネントをロードして、洗浄を行います。ラン後の洗浄の所要時間は約20分です。

ランの完了直後に洗浄を始めてください。装置洗浄を実施してから、後続のランのセットアップが可能になります。ランの直後以外の時期にラン後の洗浄を行うには、[Perform Wash] 画面上のコマンドを使用して洗浄を開始します。



### 注意

使用済みフローセルを装置に残したままにします。装置洗浄を行うには、フローセルが装置にロードされている必要があります。

以下の方法で定期的に装置洗浄を行うことで継続的な性能を確保します：

- ▶ 送液ラインおよびシッパーから残っている試薬を洗い流します。
- ▶ 送液ラインおよびシッパーでの塩分の集積および結晶化を防ぎます。
- ▶ 前のランからのクロスコンタミネーションを防ぎます。

MCSv2.5以降をご使用の場合、次亜塩素酸ナトリウム液 (NaOCl) を用いたテンプレートライン洗浄を含むラン後の洗浄を行うオプションがあります。洗浄には約30分かかります。

「テンプレートライン洗浄を伴う手順」、48ページを参照してください。



### 注意

VeriSeq PGSワークフローを用いる場合、テンプレートライン洗浄を含むラン後の洗浄を行ってください。「テンプレートライン洗浄を伴う手順」、48ページを参照してください。

## 消耗品

- ▶ Tween 20
- ▶ ラボラトリーグレード水
- ▶ NaOCl (テンプレートライン洗浄を含むラン後の洗浄に使用)
- ▶ MiSeqチューブ (パーツ番号：MS-102-9999) (テンプレートライン洗浄を含むラン後の洗浄用)

## 手順

- 1 新しい洗浄溶液を、Tween 20とラボラトリーグレード水を使用して以下のように調製します。
  - a 5 mL 100% Tween 20を45 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で10%のTween 20になります。
  - b 25 mL 10% Tween 20を475 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で0.5%のTween 20洗浄溶液になります。
  - c 5回転倒混和します。
- 2 以下のとおりに新しい洗浄溶液で洗浄コンポーネントを調製します。
  - a 6 mLの洗浄溶液を洗浄トレイの各リザーバーに加えます。
  - b 350 mLの洗浄溶液を500 mLの洗浄ボトルに加えます。
- 3 ランが完了したら、[Start Wash] を選択します。ソフトウェアがシッパーを試薬チラーへ自動的に上げます。
 

[Post-Run Wash] 画面では、[Perform optional template line wash] を選択しないでください。テンプレートライン洗浄には別の手順が必要です。「テンプレートライン洗浄を伴う手順」、48ページを参照してください。

- 4 試薬コンパートメントドアおよび試薬チラーのドアを開き、チラーから使用済み試薬カートリッジをスライドさせて取り出します。
- 5 洗浄トレイを試薬チラーの中へスライドさせ、止まったら試薬チラーのドアを閉じます。
- 6 PR2ボトルと廃液ボトルの前にあるシッパーハンドルが固定されるまで持ち上げます。
- 7 PR2ボトルを取り外し、洗浄ボトルと交換します。

**注意**

各ランの後にPR2ボトルを破棄します。残ったPR2を再使用してはいけません。

- 8 廃液ボトルを取り出し、内容物を適切に廃棄します。廃液ボトルを試薬コンパートメントに戻します。

**警告**

この試薬のセットには、生殖毒性がある可能性の高い脂肪族アミドであるホルムアミドを含みます。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。目を保護するもの、手袋、ラボ用衣服など、保護服を着用してください。地域の行政安全基準に従って、化学廃棄物などの使用済み試薬を処理および廃棄します。環境、健康、安全性に関する情報については、[support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html)にある本キットのSDSを参照してください。

- 9 シッパーハンドルをゆっくりと下げ、シッパーが洗浄ボトルと廃液ボトルの奥まで挿入されていることを確認します。
- 10 試薬コンパートメントドアを閉じます。
- 11 [Next] を選択します。ラン後の洗浄が始まります。

洗浄の完了後は、使用済みフローセル、洗浄トレイ、および残りの洗浄溶液の入った洗浄ボトルを装置に残したままにします。

**注意**

シッパーは下の位置に留まります。この位置が正常です。洗浄トレイおよび洗浄ボトルの未使用洗浄溶液をそのままにして、シッパーが乾燥し、空気がシステムに入るのを防ぎます。

## テンプレートライン洗浄を伴う手順

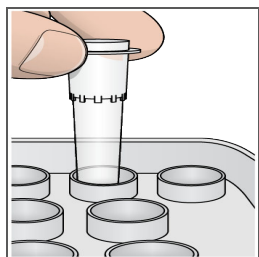
- 1 新しい洗浄溶液を、Tween 20とラボラトリーグレード水を使用して以下のとおり調製します。
  - a 5 mL 100% Tween 20を45 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で10%のTween 20になります。
  - b 25 mL 10% Tween 20を475 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で0.5%のTween 20洗浄溶液になります。
  - c 5回転倒混和します。
- 2 ラボラトリーグレード水を用いた新しいNaOCl洗浄溶液を以下のとおり調製します。
  - a 5%NaOClの36  $\mu$ Lをラボラトリーグレード水864  $\mu$ Lに添加します。これにより、1:25のNaOCl希釈液になります。
  - b MiSeqチューブ（パーツ番号：MS-102-9999）内のラボラトリーグレード水950  $\mu$ Lに1:25のNaOCl希釈液50  $\mu$ Lを添加します。

**注意**

正確な濃度のNaOClを用いることが重要です。製品ラベルのNaOCl濃度を必ず確認してください。濃度が高すぎる場合、後続のランでクラスター形成が失敗する可能性があります。5%のNaOClがない場合は、ラボラトリーグレード水で0.01%NaOClの1 mL溶液を調製します。NaOClをメンテナンス洗浄またはスタンバイ洗浄で使用しないでください。

- 3 以下のとおりに新しい洗浄溶液で洗浄コンポーネントを調製します：
  - a 6mLの洗浄溶液を洗浄トレイの各リザーバーに加えます。
  - b 350mLの洗浄溶液を500mLの洗浄ボトルに加えます。
- 4 0.01%のNaOCl洗浄溶液を含むMiSeqチューブを、洗浄トレイの位置17に挿入し、チューブの首の部分がトレイと同じ高さになるようにします。このチューブにより、位置17のラボラトリグレード水の洗浄溶液とTween 20が置き換えられます。

図19 洗浄トレイの位置17のMiSeqチューブ



**注意**

NaOClを含むMiSeqチューブは、必ず位置17のみに挿入してください。別の位置にチューブを挿入すると、後続のランでクラスター形成が失敗する場合があります。MiSeq装置の流路システムが破損するおそれがあります。

- 5 ランが完了したら、**[Start Wash]** を選択します。ソフトウェアがシッパーを試薬チラーへ自動的に上げます。
- 6 **[Post-Run Wash]** 画面で **[Perform optional template line wash]** を選択します。VeriSeq PGSワークフローを用いる場合は、**[Perform optional template line wash]** があらかじめ選択されています。MCSは、各ラン後に行われたラン後の洗浄のタイプを追跡します。ラン後の洗浄に **[Perform optional template line wash]** が選択されていない場合、次にシーケンスランを開始するときに **[Run Review]** 画面に注意喚起のメッセージが表示されます。
- 7 試薬コンパートメントドアおよび試薬チラーのドアを開き、チラーから使用済み試薬カートリッジをスライドさせて取り出します。
- 8 洗浄トレイを試薬チラーの中へスライドさせ、止まったら試薬チラーのドアを閉じます。
- 9 PR2ボトルと廃液ボトルの前にあるシッパーハンドルが固定されるまで持ち上げます。
- 10 PR2ボトルを取り外し、洗浄ボトルと交換します。



**注意**

各ランの後にPR2ボトルを破棄します。残ったPR2を再使用してはいけません。

- 11 廃液ボトルを取り出し、内容物を適切に廃棄します。廃液ボトルを試薬コンパートメントに戻します。



**警告**

この試薬のセットには、生殖毒性がある可能性の高い脂肪族アミドであるホルムアミドを含みます。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。目を保護するもの、手袋、ラボ用衣服など、保護服を着用してください。地域の行政安全基準に従って、化学廃棄物などの使用済み試薬を処理および廃棄します。環境、健康、安全性に関する情報については、[support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html)にある本キットのSDSを参照してください。

- 12 シッパーが洗浄ボトルおよび廃液ボトルの中に下がっていることを確認しながら、シッパーハンドルをゆっくりと下げます。
- 13 試薬コンパートメントドアを閉じます。

14 [Next] を選択します。ラン後の洗浄が始まります。

洗浄の完了後は、使用済みフローセル、洗浄トレイ、および残りの洗浄溶液の入った洗浄ボトルを装置に残したままにします。



**注意**

シッパは下の位置に留まります。この位置が正常です。洗浄トレイおよび洗浄ボトルの未使用洗浄溶液をそのままにして、シッパが乾燥し、空気がシステムに入るのを防ぎます。

# メンテナンス

メンテナンスの頻度 .....	52
VeriSeq PGSワークフローのためのメンテナンス頻度 .....	53
メンテナンス洗浄の実施 .....	54
スタンバイウォッシュの実施 .....	57
ファイルの管理 .....	59
ソフトウェアの更新 .....	61
装置のシャットダウン .....	62



## メンテナンスの頻度

推奨された間隔で次のメンテナンス手順を実施します。



### 注意

VeriSeq PGSワークフローを実行する場合は、VeriSeq PGSのメンテナンス頻度ガイドラインに必ず従ってください。「VeriSeq PGSワークフローのためのメンテナンス頻度」、53ページを参照してください。

表2 通常運転中のメンテナンス

作業	頻度
ラン後の洗浄	各ランの終了後
メンテナンス洗浄	毎月
スタンバイ洗浄	アイドルモード（7日以上未使用の場合）の準備用、30日ごとに実施され、装置はアイドルモードとなります。
装置シャットダウン	必要に応じて

表3 アイドルモード（7日以上未使用）の場合のメンテナンス

作業	頻度
スタンバイ洗浄	毎月
装置シャットダウン	必要に応じて

## VeriSeq PGSワークフローのためのメンテナンス頻度

VeriSeq PGSワークフローを実行する場合は、推奨間隔で次のメンテナンス手順を行ってください。

表4 通常運転中のメンテナンス

作業	頻度
ラン後の洗浄	各ランの終了後
メンテナンス洗浄	毎月
【Perform Wash】画面からのラン後の洗浄	アイドルモード後（3日超未使用）
スタンバイ洗浄	アイドルモード（7日以上未使用の場合）の準備用、30日ごとに実施され、装置はアイドルモードとなります。
装置シャットダウン	必要に応じて

表5 アイドルモード（7日以上未使用）の場合のメンテナンス

作業	頻度
スタンバイ洗浄	毎月
装置シャットダウン	必要に応じて

## メンテナンス洗浄の実施

30日ごとにメンテナンス洗浄を行い、最適性能を確保します。

メンテナンス洗浄は、完了までに約90分かかります。洗浄には、徹底的にシステムを洗浄する一連の3洗浄ステップが含まれます。

ランとランの間でメンテナンス洗浄を実施するように装置を構成することができます。詳細については、「システム設定のカスタマイズ」、21ページを参照してください。

### ユーザーが用意する消耗品

- ▶ Tween 20 (Sigma-Aldrich、カタログ番号：P7949)
- ▶ ラボラトリーグレード水

### 手順

- 1 使用済みフローセルが装置にロードされていることを確認します。
- 2 [Home] 画面から [Perform Wash] を選択します。
- 3 [Perform Wash] 画面から、[Maintenance Wash] を選択します。ソフトウェアがシッパを試薬チラーへ自動的に上げます。

### 1回目の洗浄の実施

- 1 新しい洗浄溶液は、Tween 20とラボラトリーグレード水を使用して以下のように調製します。
  - a 5 mL 100% Tween 20を45 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で10%のTween 20になります。
  - b 25 mL 10% Tween 20を475 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で0.5%のTween 20洗浄溶液になります。
  - c 5回転倒混和します。
- 2 新しい洗浄溶液を使用して洗浄コンポーネントを以下のように調製します。
  - a 6 mLの洗浄溶液を洗浄トレイの各リザーバーに加えます。
  - b 350 mLの洗浄溶液を500 mLの洗浄ボトルに加えます。
- 3 装置に洗浄トレイおよび洗浄ボトルをロードします。
  - a 試薬コンパートメントドアおよび試薬チラーのドアを開き、チラーから使用済み試薬カートリッジまたは洗浄トレイをスライドさせて取り出します。
  - b 洗浄トレイを試薬チラーの一番奥までスライドさせます。試薬チラードアを閉じます。
  - c PR2ボトルと廃液ボトルの前にあるシッパハンドルが固定されるまで持ち上げ、PR2ボトルを廃液ボトルと交換します。



#### 注意

各ランの後にPR2ボトルを破棄します。残ったPR2を再使用してはいけません。

- d 廃液ボトルを取り出し、内容物を適切に廃棄します。廃液ボトルを試薬コンパートメントに戻します。



- e シッパーが洗浄ボトルおよび廃液ボトルの中に下がっていることを確認しながら、シッパーハンドルをゆっくりと下げます。
- f 試薬コンパートメントドアを閉じます。

4 [Next] を選択します。1回目の洗浄が始まります。

## 2回目の洗浄の実施



### 注意

各洗浄手順では、必ず新しい洗浄溶液を使用してください。前の洗浄からの洗浄溶液を再利用すると、送液ラインに廃棄物を戻す可能性があります。

- 1 新しい洗浄溶液は、Tween 20とラボラトリーグレード水を使用して以下のように調製します。
  - a 5 mL 100% Tween 20を45 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で10%のTween 20になります。
  - b 25 mL 10% Tween 20を475 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で0.5%のTween 20洗浄溶液になります。
  - c 5回転倒混和します。
- 2 1回目の洗浄が完了したら、洗浄トレイおよび洗浄ボトルを取り出し、残りの洗浄溶液を廃棄します。
- 3 以下のとおりに新しい洗浄溶液で洗浄コンポーネントを補充します：
  - a 6 mLの洗浄溶液を洗浄トレイの各リザーバーに加えます。
  - b 350 mLの洗浄溶液を500 mLの洗浄ボトルに加えます。
- 4 以下のとおりに洗浄トレイおよび洗浄ボトルをロードします：
  - a 洗浄トレイを試薬チラーの一番奥までスライドさせます。試薬チラードアを閉じます。
  - b 洗浄ボトルをロードし、シッパーが洗浄ボトルおよび廃液ボトルの中に下がっていることを確認しながら、シッパーハンドルをゆっくりと下げます。
  - c 試薬コンパートメントドアを閉じます。
- 5 [Next] を選択します。2回目の洗浄が始まります。

## 最終洗浄の実施

- 1 新しい洗浄溶液は、Tween 20とラボラトリーグレード水を使用して以下のように調製します。
  - a 5 mL 100% Tween 20を45 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で10%のTween 20になります。
  - b 25 mL 10% Tween 20を475 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で0.5%のTween 20洗浄溶液になります。
  - c 5回転倒混和します。
- 2 2回目の洗浄が完了したら、洗浄トレイおよび洗浄ボトルを取り出し、残りの洗浄溶液を廃棄します。

- 3 以下のとおりに新しい洗浄溶液で洗浄コンポーネントを補充します：
  - a 6mLの洗浄溶液を洗浄トレイの各リザーバーに加えます。
  - b 350mLの洗浄溶液を500mLの洗浄ボトルに加えます。
- 4 以下のとおりに洗浄トレイおよび洗浄ボトルをロードします：
  - a 洗浄トレイを試薬チラーの一番奥までスライドさせます。試薬チラードアを閉じます。
  - b 洗浄ボトルをロードし、シッパが洗浄ボトルおよび廃液ボトルの中に下がっていることを確認しながら、シッパハンドルをゆっくりと下げます。
  - c 試薬コンパートメントドアを閉じます。
- 5 [Next] を選択します。最終洗浄が始まります。

## 洗浄の後

洗浄の完了後は、使用済みフローセル、洗浄トレイ、および残りの洗浄溶液の入った洗浄ボトルを装置に残したままにします。



### 注意

シッパは下の位置に留まります。この位置が正常です。洗浄トレイおよび洗浄ボトルの未使用洗浄溶液をそのままにして、シッパが乾燥し、空気がシステムに入るのを防ぎます。

## スタンバイウォッシュの実施

次の7日以内に装置を用いる計画がない場合、スタンバイウォッシュを実施することによって装置および装置送液ラインの準備を実行しアイドル状態にします。スタンバイウォッシュは30日ごとに実施し、装置をスタンバイ状態にします。

スタンバイウォッシュは、完了までに約2時間かかります。その洗浄では、各位置で残った試薬または塩分の集積をすべて洗い流すために連続して洗浄を2回実施します。各洗浄の所要時間は約60分です。

スタンバイウォッシュが完了すると、装置はスタンバイモードになり、装置の状態を通知する [Home] 画面メッセージが表示されます。装置が待機状態にある場合、シーケンスランを開始する前にメンテナンス洗浄を行う必要があります。

### ユーザーが用意する消耗品

- ▶ Tween 20 (Sigma-Aldrich、カタログ番号：P7949)
- ▶ ラボラトリーグレード水

## 手順

- 1 使用済みフローセルが装置にロードされていることを確認します。
- 2 [Home] 画面から [Perform Wash] を選択します。
- 3 [Wash Options] 画面から、[Standby Wash] を選択します。ソフトウェアがシッパを試薬チラーへ自動的に上げます。

### 1回目の洗浄の実施

- 1 新しい洗浄溶液は、Tween 20とラボラトリーグレード水を使用して以下のように調製します。
  - a 5 mL 100% Tween 20を45 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で10%のTween 20になります。
  - b 25 mL 10% Tween 20を475 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で0.5%のTween 20洗浄溶液になります。
  - c 5回転倒混和します。
- 2 新しい洗浄溶液を使用して洗浄コンポーネントを以下のように調製します。
  - a 6 mLの洗浄溶液を洗浄トレイの各リザーバーに加えます。
  - b 350 mLの洗浄溶液を500 mLの洗浄ボトルに加えます。
- 3 装置に洗浄トレイおよび洗浄ボトルをロードします。
  - a 試薬コンパートメントドアおよび試薬チラーのドアを開き、チラーから使用済み試薬カートリッジまたは洗浄トレイをスライドさせて取り出します。
  - b 洗浄トレイを試薬チラーの一番奥までスライドさせます。試薬チラードアを閉じます。
  - c PR2ボトルと廃液ボトルの前にあるシッパハンドルが固定されるまで持ち上げ、PR2ボトルを廃液ボトルと交換します。



**注意**  
各ランの後にPR2ボトルを破棄します。残ったPR2を再使用してはいけません。

- d 廃液ボトルを取り出し、内容物を適切に廃棄します。廃液ボトルを試薬コンパートメントに戻します。
  - e シッパが洗浄ボトルおよび廃液ボトルの中に下がっていることを確認しながら、シッパハンドルをゆっくりと下げます。
  - f 試薬コンパートメントドアを閉じます。
- 4 [Next] を選択します。1回目の洗浄が始まります。

## 2回目の洗浄の実施



### 注意

各洗浄手順では、必ず新しい洗浄溶液を使用してください。前の洗浄からの洗浄溶液を再利用すると、送液ラインに廃棄物を戻す可能性があります。

- 1 新しい洗浄溶液は、Tween 20とラボラトリーグレード水を使用して以下のように調製します。
  - a 5 mL 100% Tween 20を45 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で10%のTween 20になります。
  - b 25 mL 10% Tween 20を475 mLのラボラトリーグレード水に添加します。この量で0.5%のTween 20洗浄溶液になります。
  - c 5回転倒混和します。
- 2 1回目の洗浄が完了したら、洗浄トレイおよび洗浄ボトルを取り出し、残りの洗浄溶液を廃棄します。
- 3 以下のとおりに新しい洗浄溶液で洗浄コンポーネントを補充します：
  - a 6 mLの洗浄溶液を洗浄トレイの各リザーバーに加えます。
  - b 350 mLの洗浄溶液を500 mLの洗浄ボトルに加えます。
- 4 以下のとおりに洗浄トレイおよび洗浄ボトルをロードします：
  - a 洗浄トレイを試薬チラーの一番奥までスライドさせます。試薬チラードアを閉じます。
  - b 洗浄ボトルをロードし、シッパが洗浄ボトルおよび廃液ボトルの中に下がっていることを確認しながら、シッパハンドルをゆっくりと下げます。
  - c 試薬コンパートメントドアを閉じます。
- 5 [Next] を選択します。2回目の洗浄が始まります。

## 洗浄の後

洗浄の完了後は、使用済みフローセル、洗浄トレイ、および残りの洗浄溶液の入った洗浄ボトルを装置に残したままにします。



### 注意

シッパは下の位置に留まります。この位置が正常です。洗浄トレイおよび洗浄ボトルの未使用洗浄溶液をそのままにして、シッパが乾燥し、空気がシステムに入るのを防ぎます。

## ファイルの管理

[Home] 画面の [Manage Files] 機能にアクセスし、装置のコンピューター上でファイルの移動、アップロード、削除、またはサンプルシート名の変更を行います。

### ファイルの削除

- 1 [Manage Files] 画面のいずれかのタブから、[Browse] を選択し、装置にアクセス可能なファイルに移動します。
- 2 以下のオプションから選択してください：
  - ▶ リスト内の個々のファイルあるいはフォルダの横のチェックボックスを選択します。
  - ▶ [Delete] ボタンの横にあるチェックボックスを選択して、リスト内のファイルおよびフォルダをすべて削除します。全削除コマンドはサンプルシート、マニフェスト、ゲノム、およびレシピに使用可能です。
- 3 [Delete] を選択します。



注意

[Delete] コマンドは、[Bundle Logs] を除くすべてのタブで使用できます。

### ランフォルダの移動

[Move] コマンドはランフォルダを新しい場所にコピーして、古い場所からフォルダを削除します。

- 1 [Manage Files] 画面の [Runs] タブから、[Browse] を選択し、装置にアクセス可能なファイルに移動します。
- 2 リスト内の個々のファイルあるいはフォルダの横のチェックボックスを選択します。
- 3 [Move] を選択します。
- 4 [Browse Network] を選択し、ファイルまたはフォルダの新たな場所を選択します。
- 5 [OK] を選択します。

### ファイルのアップロード

アップロードコマンドはサンプルシート、マニフェスト、ゲノム、およびレシピに使用可能です。MiSeqがネットワークに接続されていない場合は、この機能を使用してファイルをUSBドライブから装置のコンピューターにアップロードします。

- 1 [Manage Files] 画面のタブから、[Browse] を選択し、装置にアクセス可能なファイルに移動します。
- 2 [Upload] を選択します。
- 3 [Browse Network] を選択し、ファイルが存在する場所をUSBドライブ上で参照します。
- 4 [OK] を選択します。  
ファイルは、[Directory] フィールドに示されたフォルダにアップロードされます。

## サンプルシート名の変更

- 1 [Manage Files] 画面の [Sample Sheets] タブから、以下のオプションを選択します。
  - ▶ 各サンプルシートの横にあるチェックボックスを選択します。
  - ▶ [Delete] ボタンの横にあるチェックボックスを選択して、リスト内のサンプルシート名をすべて変更します。
- 2 [Rename] を選択します。
- 3 キーボードアイコンを選択し画面上のキーボードを使用して、サンプルシート名を変更します。
- 4 [Next] を選択します。
- 5 [Back] を選択します。

## ソフトウェアの更新

システムがインターネットに接続できるネットワークに接続されている場合、装置ソフトウェアは [Home] 画面から自動的に更新できます。BaseSpace Onsite最新版の有無を自動的にチェックするようソフトウェアを設定することもできます。詳細については、「BaseSpace最新版の設定通知」、22ページを参照してください。

装置がインターネットにアクセスできるネットワークに接続されていない場合は、ソフトウェアは手動で更新できます。

### ソフトウェアの自動更新

ソフトウェアの更新ファイルが入手可能になると、[Update Available] ボタンが [Home] 画面に表示されます。そうではない場合、ボタンは表示されません。このオプションを有効にするには、MiSeqがインターネットアクセスできるネットワークに接続されていることを確認してください。

- 1 [Home] 画面から [Update Available] を選択します。
- 2 ダイアログボックスで更新すべきコマンドを確認します。  
装置を再起動する必要があります。再起動後、更新のインストールが自動的に開始します。

### ソフトウェアの手動更新

インストール可能なソフトウェアファイルの場所を参照することにより、MiSeqインターフェースから装置コントロールソフトウェアおよび解析ソフトウェアを更新するには、[Manual Update] 機能を使用します。

- 1 [Home] 画面から [Manage Instrument] を選択します。
- 2 [Software Update] を選択します。
- 3 [Browse] を選択して、新しいソフトウェアバージョン用のインストール可能なファイル位置に移動します。
- 4 インストール可能ソフトウェアファイルへのパスが画面に表示されたら、[Save and Update] を選択します。
- 5 ダイアログボックスで更新すべきコマンドを確認します。  
装置を再起動する必要があります。再起動後、更新のインストールが自動的に開始します。

## 装置のシャットダウン

装置は常時ONにしておくのが最適です。ただし、装置をOFFにする必要がある場合は、以下の手順に従って、Windowsをシャットダウンして送液ラインを準備します。

- 1 メンテナンス洗浄を実施します。詳細については、「メンテナンス洗浄の実施」、54ページを参照してください。
- 2 廃液ボトルを取り出し、内容物を適切に廃棄します。廃液ボトルを試薬コンパートメントに戻します。
- 3 試薬コンパートメントドアを閉じます。
- 4 [Home] 画面から [Manage Instrument] を選択します。
- 5 [Shut Down] を選択します。  
このコマンドにより、ソフトウェアがシャットダウンされます。
- 6 主電源スイッチをOFFの位置に入れます。



### 注意

機器をOFFにした場合は、**少なくとも60秒間**待機してから電源スイッチをONの位置に戻すようにしてください。



# トラブルシューティング

はじめに .....	64
トラブルシューティングのためのバンドルログ .....	65
システムチェックの実施 .....	66
Live Help .....	67
ランの一時停止または停止 .....	68
試薬カートリッジシッパーの手動による持上げ .....	69
ランセットアップエラーの解決 .....	70
RFIDリードエラーの解決 .....	71
流量エラーのトラブルシューティング .....	73
容積テストの実施 .....	74
予測される洗浄容量の測定 .....	76
システム設定値の設定 .....	77



## はじめに

本章では、イルミナのテクニカルサポートに問い合わせる前に行う一般的なトラブルシューティングの手順を説明します。ほとんどのエラーに関しては、エラーの修正方法を説明するメッセージが画面に表示されます。

技術的な質問については、イルミナのウェブサイトのMiSeqサポートページにあるFAQにアクセスするか、ご自身のMyIlluminaアカウントにログインしてサポート掲示板にアクセスしてください。

ランの品質または性能による問題については、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。詳細については、「テクニカルサポート」、89ページを参照してください。

トラブルシューティングを目的とし、ランに固有なファイルのコピーがイルミナのテクニカルサポートの担当者によって要求されることがあります。[Manage Files] 画面の [Bundle Logs] タブを使用して、トラブルシューティングに必要なファイルをまとめてZip圧縮することができます。「トラブルシューティングのためのバンドルログ」、65ページを参照してください。

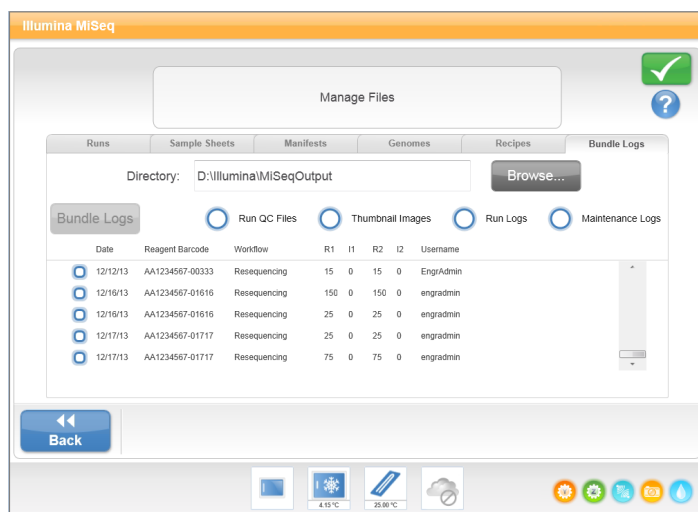
## トラブルシューティングのためのバンドルログ

バンドルログは、トラブルシューティングを目的とし、イルミナのテクニカルサポートにバンドルファイルを送信する機能です。[Manage Files] 画面の [Bundle Logs] タブを使用して、[bundle] という名前のファイルグループを選択します。バンドルは自動的に圧縮されます。

バンドルログ機能は、1回のランのファイルを1バンドルタイプにグループ化します。イルミナのテクニカルサポートが要求する各ランおよびバンドルタイプのバンドルログ処置を繰り返します。

- 1 [Manage Files] 画面が表示されたら、[Bundle Logs] タブを選択します。
- 2 [Browse] を選択して、MiSeqOutputフォルダに移動します。
- 3 [run] の横の青色のボックス、およびイルミナのテクニカルサポートが要求するバンドルタイプの横の青色の円をクリックします。
- 4 [Bundle Logs] を選択します。  
[Bundle Files] 画面が開き、バンドルに含まれる個別ファイルのリストなどのバンドルに関する情報が表示されます。  
バンドルログ機能の個々のフォルダおよびファイルの詳細については、『MiSeq Output and Analysis Folders Quick Reference Card (文書番号：15034791)』を参照してください。
- 5 [Next] を選択します。
- 6 Zip形式のバンドルファイルを保存する場所を指示します。
- 7 [Save] を選択します。  
ファイルのバンドリングが終了すると、[Bundle Logs] タブが再び開きます。
- 8 イルミナのテクニカルサポートにZip形式のバンドルをご送付ください。

図20 [Bundle Logs] タブ



## システムチェックの実施

【System Check】画面は通常、Live Helpセッション中に、イルミナのテクニカルサポートの担当者と通信するために使用されます。通常の操作を行っている際や装置のメンテナンスを行うためにこの機能を使用する必要はありません。

イルミナのテクニカルサポートに問い合わせる前に、容量テストなど一部のシステムチェックを実施できます。容量テストでは、気泡がセンサーを通過する時の流量を推定することで流路システムの状態を確認します。詳細については、「容積テストの実施」、74ページを参照してください。

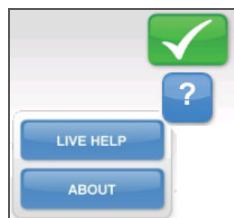
- 1 【Home】画面から【Manage Instrument】を選択します。
- 2 【System Check】を選択します。
- 3 実施対象のテストを選択します。
- 4 【Next】を選択します。  
完了すると、テスト結果が画面に表示されます。
- 5 (オプション) 【Show Details】を選択すると、ソフトウェアインターフェースに結果の概要を表示します。
- 6 【Export Results】を選択すると、(オプション) \*.csvファイル形式の結果をUSBドライブにエクスポートします。
- 7 【Done】を選択します。

## Live Help

Live Helpを有効にするには、インターネットにアクセスできるネットワークにMiSeqが接続されている必要があります。Live Help機能は、イルミナのテクニカルサポート担当者がお客様の許可を得て、MiSeq画面および装置の制御を共有するオンライン支援ツールです。優先的に制御できるようになり、いつでも画面共有セッションを終了できます。

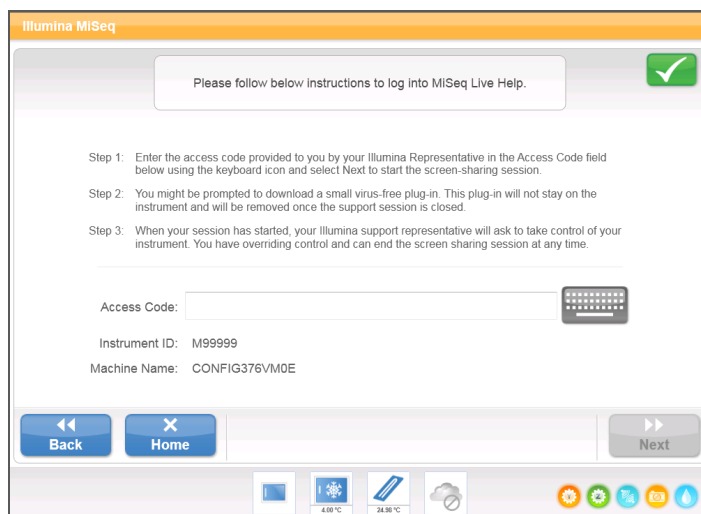
Live Help機能へは、[Home] 画面のヘルプアイコンからアクセスします。

図21 ヘルプメニュー



接続を有効にするには、イルミナのテクニカルサポートがお知らせする固有のアクセスコードを [Live Help] 画面で入力して、[Next] を選択します。

図22 Live Help画面



## ランの一時停止または停止

MiSeqは、ユーザーの介入なしに初めから終わりまでランを完了するよう設計されています。しかし、[Sequencing] 画面からランを一時停止または停止することができます。

### ランの一時停止

ランが完了する前に、それを一時停止できます。たとえば、廃液ボトルを空にしなければならない可能性がある場合、ランの一時停止が必要となることがあります。一時停止したランは再開できます。



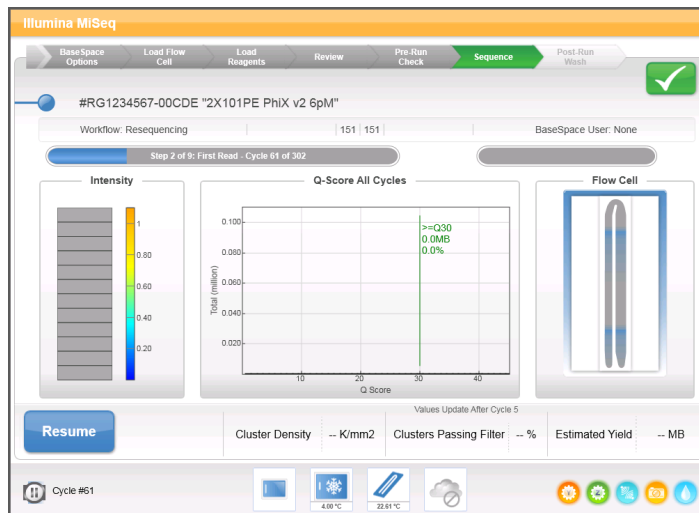
#### 警告

クラスター形成中、あるいはシーケンスの最初の8サイクルまでに、ランを一時停止しないでください。この時に一時停止したランを再開することはできません。MiSeq 試薬カートリッジキットのためのサイクル情報を確認するには、「ランメトリクス」、46ページを参照してください。

[Pause] を選択した場合、現在のコマンドは、ランが一次停止してフローセルが安全な状態に置かれた後で完了します。

[Sequencing] 画面からランを一時停止するには、[Pause] を選択します。ボタンが [Resume] に変わります。ランを再開する準備ができれば、[Resume] を選択します。

図23 一時停止したランの [Sequence] 画面

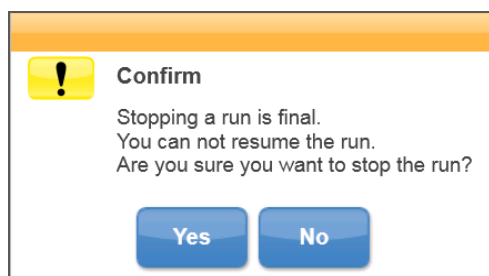


## ランの停止

ランが完了する前に、[Sequencing] 画面の [Stop] ボタンを使用すると、シーケンス中にランを停止できます。不適切にランがセットアップされている場合、データクオリティが低い場合、ハードウェアエラーが生じた場合などに、ランの停止が必要となることがあります。

ランを停止すると、現在のコマンドは完了せず、フローセルステージが前方の位置に移動します。Real-time Analysisソフトウェアは、最後に完了したサイクルの解析を継続します。

図24 ランの停止



ランの終了は最終的なものです。停止したランを再開することはできません。装置洗浄のみに進むことができます。

## 試薬カートリッジシッパーの手動による持ち上げ

ランが予期せず中断された場合、またはラン中にエラーが生じた場合、試薬カートリッジシッパーは自動的に上昇しない可能性があります。試薬カートリッジを取り外すためには、試薬カートリッジシッパーを手動で持ち上げてください。

- 1 [Home] 画面から [Perform Wash] を選択します。
- 2 [Raise Sippers] を選択します。
- 3 試薬カートリッジを取り外します。

## ランセットアップエラーの解決

プレランチェックのいずれかのチェックに問題がある場合、赤色アイコン✖が項目横に表示されます。エラーおよびその修正方法を説明するメッセージが画面に表示されます。

エラー	措置
✖ Flow Rate Measured	<p>[flow rate check] 画面が開きます。ドロップダウンリストまたは画面上のキーボードを使用して以下の内容を入力します：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 溶液：PR2</li> <li>• 容量：250</li> <li>• 吸引速度：2500</li> <li>• 分注速度：2500</li> </ul> <p>[Pump] を選択します。エラーが継続する場合は、500 <math>\mu</math>LのPR2を送液するように容積を設定し、手順を繰り返します。送液が完了すると、[Restart Check] を選択します。</p> <p>プレランチェックが問題なく完了すると、[Start Run] ボタンが有効になります。</p> <p>流量チェックで再び問題があれば、フローセルを取り付け直し、位置ずれによって流れが遮断されていないことを確認します。フローセルガasketに細かいごみがないこと、異常がないことを検査します。</p>
✖ Free Disk Space	<p>ディスク領域が少ないと、必要なディスク領域を示すメッセージが表示されます。[Manage Files] 機能を使用して、装置のコンピューターからデータを消去して必要な領域を確保します。</p>
✖ Network Connection Active	<p>ネットワークケーブルが装置に差し込まれていることを確認します。</p> <p>ネットワーク接続が復旧しなければ、[Manage Instrument] 画面の [Reboot] を選択してソフトウェアを再起動します。</p> <p>それでも接続が復旧しない場合、[Manage Instrument] 画面の [Shut Down] を選択して、電源スイッチで装置の電源を切ります。60秒以上経過した後、装置の電源を入れてソフトウェアを起動します。</p>
✖ Primary Analysis Ready	<p>前のランからの一次解析が完了していません。一次解析の完了に許容されるデフォルトの時間は1時間で、画面にカウントダウンが表示されます。選択肢は1時間待つか、または [Terminate Analysis] を選択します。未完了のサイクルがあれば二次解析が停止します。</p>
✖ Sample Sheet Present	<p>ランの試薬カートリッジIDを使用してサンプルシートに名前を付けていない場合は、装置によって適切なサンプルシートは自動的に検索できません。ランのサンプルシートを参照します。</p> <p>ランの試薬カートリッジIDを使用してサンプルシートに名前を付けた場合は、デフォルトのサンプルシートフォルダでサンプルシートが検索されることを確認してください。[Home] 画面の [Run Options] でデフォルトのフォルダの場所をチェックします。</p> <p>サンプルシートファイルの拡張子が*.csvであることを確認します。</p> <p>サンプルシートが見つからない場合は作成し、[Run Options] で指定したサンプルシートの場所にコピーします。</p> <p>サンプルシートが見つかったら、[Restart Check] を選択します。</p>



## RFIDリーダーエラーの解決

システムが消耗品のRFIDを読み取れない場合は、イルミナのウェブサイトから一時的なバイパスコードを取得できます。仮のバイパスコードは7日で期限が切れます。

- 1 先に進む前に必ず **[Retry]** を選択します。RFIDの読み取りに2回失敗した場合は、**[Get Code]** を選択します。
- 2 コンピューターからインターネットアクセスにアクセスし、my.illumina.comに移動し、MyIlluminaアカウントにログインします。
- 3 MyIlluminaページから、**[Account]** をクリックします。**[Resources]** 列で、**[MiSeq Self-Service]** をクリックします。
- 4 **[MiSeq Self-Service]** ページで、**[MiSeq serial number]** を入力します。
- 5 **[Type of Override Code]** ドロップダウンリストで、**[RFID Override]** を選択します。

図25 **[MiSeq Self-Service]** ページ

- 6 コードを生成するには、**[Get Code]** を選択します。
- 7 MCSインターフェースに戻るには、**[Enter Code]** を選択します。
- 8 画面上のキーボードを使用して一時的なバイパスコードを入力し、**[Next]** を選択します。
- 9 フローセル、PR2ボトル、または試薬カートリッジのバーコード番号を入力します。

消耗品	バーコード番号の場所
フローセル	フローセル容器ラベルのバーコードの上。 フローセルのバーコード番号は、A（標準）、G（マイクロ）、またはD（ナノ）で始まります。例：A0E61
PR2ボトル	PR2ボトルラベルのバーコードの下。 例：MS0011881-PR2
試薬カートリッジ	試薬カートリッジラベルのバーコードの下。 例：MS0010744-300

- 10 試薬カートリッジのバイパスコードを入力している場合は、キットのバージョン番号を入力します。[Enter Reagent Kit Barcode] を選択し、試薬カートリッジのバーコード番号およびキットのバージョン番号を手動で入力します。



警告

誤った試薬キットのバージョンを入力すると、シーケンスデータに悪影響が及ぶ可能性があります。

- 11 [Enter] を選択します。

## 流量エラーのトラブルシューティング

流量は、液体が流路システムの中を通過する速度です（ $\mu\text{L}/\text{分}$ ）。各ランの開始前、プレランチェック実行中に測定されます。システムで流量を測定できない場合は、流量を再度チェックする前にシステムにある分量の試薬（PR2）を送液するよう求められます。

- 1 ドロップダウンリストまたは画面上のキーボードを使用して以下の情報を入力します：
  - ▶ 溶液：PR2
  - ▶ 容量：250  $\mu\text{L}$
  - ▶ 吸引速度：2500  $\mu\text{L}/\text{min}$
  - ▶ 分注速度：2500  $\mu\text{L}/\text{min}$
- 2 [Pump] を選択します。
- 3 送液手順が完了したら、[Restart Check] を選択します。
- 4 エラーが継続する場合は、500  $\mu\text{L}$ のPR2を送液するように容積を設定し、もう一度手順を繰り返します。2回目でもエラーを解決できない場合は、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。

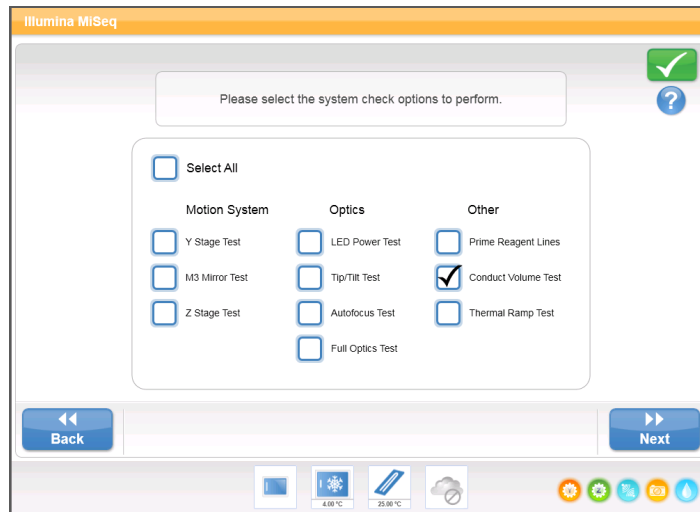
## 容積テストの実施

送液ラインに障害物があると試薬送液不足を引き起こし、シーケンス結果に影響を及ぼす可能性があります。送液ラインに障害物があることが疑われる場合は、容量テストを行います。

容積テストでは、気泡がセンサーを通り過ぎるときに、その気泡間の容積を予測して、流路システムの動作をチェックします。容積テストを実施するには、ラボラトリーグレード水を使用し、洗浄トレイと洗浄ボトルをロードし、使用済みのフローセルを所定の位置に配置する必要があります。画面上のプロンプトに従ってテストを行います。

- 1 使用済みフローセルが装置にロードされていることを確認します。
- 2 [Home] 画面から [Manage Instrument] を選択します。
- 3 [System Check] を選択します。
- 4 [Conduct Volume Test] を選択し、その後 [Next] を選択します。

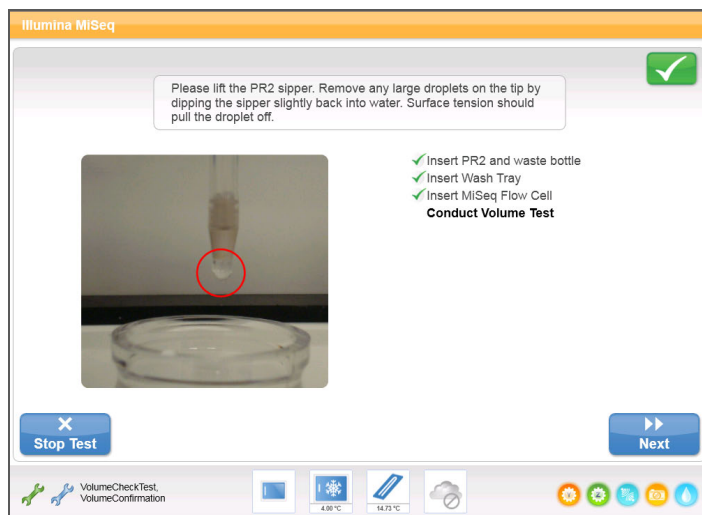
図26 [System Check] 画面



- 5 6mLのラボラトリーグレード水で、洗浄トレイの各リザーバーを満たします。
- 6 350mLのラボラトリーグレード水で、500mLの洗浄ボトルを満たします。
- 7 装置に洗浄トレイおよび洗浄ボトルをロードします。
  - a 試薬コンパートメントドアおよび試薬チャラーのドアを開け、洗浄トレイを試薬チャラーの一番奥までスライドさせます。試薬チャラードアを閉じます。
  - b シッパーハンドルが固定されるまで持ち上げ、洗浄ボトルをロードします。
  - c 廃液ボトルを取り出し、内容を適切に廃棄します。廃液ボトルを試薬コンパートメントに戻します。
  - d シッパーが洗浄ボトルおよび廃液ボトルの中に下がっていることを確認しながら、シッパーハンドルをゆっくりと下げます。
- 8 画面上のプロンプトに従いながら、以下のとおり洗浄ボトルシッパーからの滴を取り除きます：
  - a プロンプトが表示されたら、シッパーハンドルをゆっくりと上げ、洗浄ボトルシッパーに大きな水滴がないかを確認します。

- b プロンプトが表示されたら、表面張力によって滴を取り除くことができるように、水の中の十分な高さまでシッパーハンドルをゆっくりと下げます。
- c プロンプトが表示されたら、シッパーハンドルをゆっくりと上げ、洗浄ボトルシッパーに大きな水滴がないかを確認します。
- d プロンプトが表示されたら、シッパーが洗浄ボトルおよび廃液ボトルの中に下がっていることを確認しながら、シッパーハンドルをゆっくりと最後まで下げます。

図27 シッパーからの滴の除去



- 9 [Next] を選択します。容量テストが始まります。  
容量テストが完了すると、画面に結果が表示されます。  
テストに合格しない場合は、メンテナンス洗浄を行います。「メンテナンス洗浄の実施」、54ページを参照してください。
- 10 メンテナンス洗浄が完了したら、容量テストを繰り返します。

## 予測される洗浄容量の測定

予想洗浄量を測定することで、洗浄の送液が効率的に行われていることを確認します。

- 1 廃液ボトルを空にしてから、洗浄を開始します。
- 2 洗浄が完了したら、廃液ボトル内の洗浄量を測定します。

洗浄のタイプ	予想洗浄量
ラン後の洗浄	17.25 mL
テンプレートライン洗浄を含むラン後の洗浄	25.5 mL
スタンバイ洗浄	46 mL
メンテナンス洗浄	51.75 mL

## システム設定値の設定

MCSには、システム設定用のコマンドを実行できるいくつかの画面があります。通常の場合、ソフトウェア設定値はMiSeqインストール時に設定されます。

### IPとDNSの設定値の設定

ネットワークまたは設備の変更により必要な場合、IPアドレスおよびDNSサーバーアドレスを設定してください。

- 1 [Home] 画面から [Manage Instrument] を選択します。
- 2 [System Settings] を選択します。
  - ▶ [Obtain an IP address automatically] または [Use the following IP address] を選択します。
    - [Use the following IP address] を選択して、IPアドレス、サブネットマスクおよびデフォルトゲートウェイを入力します。
    - ▶ [Obtain DNS address automatically] または [Use the following DNS server addresses] を選択します。
      - [Use the following DNS server addresses] を選択して、優先および代替DNSサーバーアドレスを入力します。
- 3 [Save and Continue] を選択します。

### システム認証情報の変更

[Systems Settings] 画面でシステムユーザー名およびパスワードを変更する場合、MiSeq ReporterおよびBaseSpaceまたはBaseSpace Onsiteの認証情報も更新されます。

- 1 [Home] 画面から [Manage Instrument] を選択します。
- 2 [System Settings] を選択します。
- 3 [Save and Continue] を選択して、一連の画面の3番目の画面に進みます。
- 4 [This account] を選択します。
- 5 ドメイン名（たとえば、Domain\MiSeq1）およびパスワードを入力します。
- 6 [Save and Continue] を選択します。





# 出力ファイルとフォルダ

ランフォルダ .....	80
MiSeqOutputフォルダの内容 .....	81
RTAフォルダおよびファイル .....	82



## ランフォルダ

MiSeqでのランはそれぞれ特定の目的で、以下の3つのランフォルダを生成します。

- ▶ **D:\Illumina\MiSeqTemp** : ランが始まると、仮のランフォルダが装置のコンピューターのローカルドライブに書き込まれ、MCSおよびRTA用の作業領域として使用されます。MiSeqTempフォルダにアクセスする必要はありません。このフォルダの内容は7日後に削除されます。
- ▶ **D:\Illumina\MiSeqOutput** : RTAはMiSeqTempフォルダのファイルをMiSeqOutputフォルダにコピーします。一次解析ファイルが生成されると、RTAはファイルをMiSeqTempフォルダにコピーし、MiSeqAnalysisフォルダを格納します。集中イメージおよびサムネイルイメージはMiSeqAnalysisフォルダにコピーされません。「RTAフォルダおよびファイル」、82ページを参照してください。
- ▶ 出力フォルダの場所は、[Run Options] 画面の [Output Folder] フィールドで変更できます。詳細については、「フォルダのデフォルトの場所設定」、23ページを参照してください。
- ▶ **D:\Illumina\MiSeqAnalysis** : RTA解析が終了すると、MiSeq Reporterは、二次解析を開始するために装置のローカルドライブのMiSeqAnalysisフォルダにアクセスします。MiSeqAnalysisフォルダに書き込まれるすべてのファイルは、MiSeqOutputフォルダにコピーされます。詳細については、「MiSeqOutputフォルダの内容」、81ページを参照してください。

解析をローカルに複製せず、解析にBaseSpaceを使用している場合、装置のローカルドライブのMiSeqAnalysisフォルダは空です。

## ルートフォルダの命名

ルートランフォルダ名は、ランの日付、装置番号、およびランに使用されるフローセルを特定します。

フォルダ名では、デフォルトで次の形式を使用します。

YYMMDD\_<装置番号>\_<ラン番号>\_A<フローセルバーコード>

ラン番号は、特定の装置でランを実行するたびに1ずつ増加します。

## MiSeqOutputフォルダの内容

RTA解析完了後、MiSeqOutputフォルダにはMiSeq Reporterによる二次解析に必要なファイルが格納されます。二次解析が完了すると、イメージファイルに対する2つのサブフォルダ (ImagesおよびThumbnail\_Images) がMiSeqOutputフォルダに含まれる点を除き、MiSeqOutputフォルダとMiSeqAnalysisフォルダは同一になります。これらのサブフォルダは二次解析には使用されません。

### ファイル

出力フォルダおよび解析フォルダにコピーされるファイルは、以下のとおりです。

- ▶ **SampleSheet.csv** : ランおよび後続の解析のパラメータを提供します。ランの開始時に、サンプルシートはSampleSheet.csvという名前のファイルでルートフォルダにコピーされます。コピーはData\Intensities and Data\Intensities\BaseCallsに書き込まれます。
- ▶ **runParameters.xml** : ランに関連付けられているフローセルおよび試薬のRFIDなど、ランパラメータおよびランコンポーネントに関する情報の要約が記載されています。
- ▶ **RunInfo.xml** : シーケンスランにおけるリード数やサイクル数、リードにインデックスを付けるかどうかなど、高レベルなラン情報が記載されています。

### フォルダ

出力フォルダおよび解析フォルダにコピーされるフォルダには、シーケンスラン中に生成される以下のフォルダが含まれます。

- ▶ **<Run folder name>\Config** : ランの構成ファイルを格納します。
- ▶ **<Run folder name>\Data** : サブフォルダの蛍光強度、ベースコール、およびアライメントを格納します。MiSeq Reporterから生成されるデータは、アライメントサブフォルダにあります。
- ▶ **<Run folder name>\Data\RTALogs** : 各リードに対してRTAが実行する全ステップを記述するログファイルを格納します。
- ▶ **<Run folder name>\Data\Intensities\BaseCalls** : ベースコール (\*.bcl) ファイル、マトリックスファイル、およびフェージングファイルを含むサブフォルダを格納します。MiSeq Reporterは二次解析中にこのフォルダにFASTQファイルを書き込みます。詳細については、『MiSeq Reporter Software Guide (文書番号: 15042295)』を参照してください。
- ▶ **<Run folder name>\Recipe** : ランに使用されるレシピを格納します。
- ▶ **<Run folder name>\Logs** : 各サイクルに対して装置が実行する全ステップを記述するログファイルを格納します。
- ▶ **<Run folder name>\InterOp** : クラスタ密度、蛍光強度、クオリティスコア、ラン品質全体などの各種の一次解析メトリクスを要約するための、Sequencing Analysis Viewer(SAV)によって使用されるバイナリファイルを格納します。

一時的なランフォルダで作成されるすべての他のファイルおよびフォルダは、出力フォルダおよび解析フォルダにコピーされません。解析やトラブルシューティングに必要な一時ファイルを含みます。

MiSeq Reporterは二次解析中に、アライメントフォルダなどの他のフォルダを追加します。詳細については、『MiSeq Reporter Software Guide (文書番号: 15042295)』を参照してください。

## RTAフォルダおよびファイル

次の表では、一次解析中にReal Time Analysis(RTA)によって生成されるフォルダとファイルがリストされています。これらのファイルの多くはMiSeq Reporterソフトウェアの二次解析に使用されます。

キーファイル	サブフォルダ	内容説明
RTAComplete.txt	ルートフォルダ	ベースコール解析が完了すると生成されるマーカーファイル。このファイルが存在することで、二次解析が開始されます。
SampleSheet.csv	ルートフォルダ	このファイルは、ランの前に読み取られてランフォルダにコピーされ、後に二次解析に使用されます。
RunInfo.xml	ルートフォルダ	リードの境界線（インデックスリードを含む）と、ランに対して選択されたクオリティテーブルが特定されません。
*.bclファイル	Data\ Intensities\BaseCalls\ L001\CX.X	各*.bclファイルには、1サイクルの1タイルに対するRTAベースコーリングと塩基のクオリティスコアリングの結果が含まれます。
*.statsファイル	Data\ Intensities\BaseCalls\ L001\CX.X	*.statsファイルには、特定のサイクル/タイルに対するRTAベースコーリング統計が含まれます。
*.filterファイル	Data\ Intensities\BaseCalls	*.filterファイルには、タイルごとのフィルター結果が含まれます。
*.txt	Data\RTALogs	一次解析からのログファイル。
*.cifファイル	Data\ Intensities\L001\CX.X	バイナリ形式の各*.cifファイルには、1サイクルの1タイルに対するRTAイメージ解析結果が含まれます。詳細については、「フローセルタイルの番号付け」、83ページを参照してください。
*.locsファイル	Data\ Intensities\BaseCalls\ L001	クラスターの座標をレポートします。各*.locsファイルは1タイルを表します。
*.jpgファイル	Thumbnail_Images\ L001\CX.X	それぞれのサイクルと塩基に対して生成されたサムネイルイメージです。ランのトラブルシューティングに使用できます。これらのファイルはイメージ解析に用いられ、解析フォルダにはコピーされません。イメージファイル名については、「フローセルタイルの番号付け」、83ページを参照してください。

## フローセルタイル

シーケンスラン中に、フローセルのシングルレーンは、「タイル」と呼ばれる小さなイメージング領域でイメージ化されます。すべてのMiSeqフローセルにはシングルレーンがありますが、使用するフローセルのタイプによってタイル数が異なります。

フローセル	MiSeq Reagent Kit	タイル	イメージングサーフェース	イメージ化されるタイルの合計
標準フローセル	MiSeq Reagent Kits, v3	19タイル	上面と底面	合計38タイル
PGSフローセル	MiSeq Reagent Kit v3-PGS	19タイル	上面と底面	合計38タイル
標準フローセル	MiSeq Reagent Kits, v2	14タイル	上面と底面	合計28タイル
マイクロフローセル	MiSeq Reagent Micro Kits, v2	4タイル	上面と底面	合計8タイル
ナノフローセル	MiSeq Reagent Nano Kits, v2	2タイル	上面のみ	合計2タイル

シーケンスラン中にタイルがイメージ化されると、各タイルに対して1ファイルが出力されます。詳細については、「フローセルタイルの番号付け」、83ページを参照してください。

### フローセルタイルの番号付け

シーケンスラン中にタイルがイメージ化されると、1つのファイルにつき1つの出力ファイルが生成され、4桁の形式でタイル番号の名前が付けられます。ナノフローセルを除き、フローセルは上面および下面でイメージ化されます。各タイルの出力ファイルは、Data\Intensities\BaseCalls\L001のランフォルダにあります。

フローセル	MiSeq Reagent Kit	タイル	イメージングサーフェース	イメージファイル名
標準フローセル PGSフローセル	MiSeq Reagent Kits, v3	1~19	上面	1101~1119
		1~19	下面	2101~2119
標準フローセル	MiSeq Reagent Kits, v2	1~14	上面	1101~1114
		1~14	下面	2101~2114
マイクロフローセル	MiSeq Reagent Micro Kits, v2	1~4	上面	1101~1104
		1~4	下面	2101~2104
ナノフローセル	MiSeq Reagent Nano Kits, v2	1~2	上面のみ	1101~1102



## I

Iリード内のサイクル 29

## B

BaseSpace

最新版 22

接続 10-11

認証情報 77

BaseSpace Onsite

サーバーロケーション 21

接続 11

認証情報 77

BlueFuse Multiソフトウェア 11, 21

## C

CompletedJobInfo.xml 12

## I

InterOpフォルダ 81

IPアドレス 77

## M

MiSeq Reporter 2

概要 12

認証情報 77

MiSeq Self-Service 71

## P

PR2, ロード 41

## R

Real-time Analysis 2

結果 82

テンプレート形成 46

ランフォルダ 80

RFID

PR2 41

試薬カートリッジ 42

追跡 2

トラブルシューティング 71

RTAcomplete.txt 82

RunInfo.xml 81-82

runParameters.xml 81

## S

Sequencing Analysis Viewer 13, 45

Sequencing画面 45

status.xml 82

## V

VeriSeq PGSワークフロー

二次解析 11

フローセル 16

メンテナンス頻度 53

ローカルでの解析の複製 21

## ア

アイコン

アクティビティインジケーター 9

エラーおよび警告 9

ステータスアラート 9

センサー 10

アクティビティインジケーター 9

## イ

イニシャライズ 70

## カ

解析

オプション 11

シーケンス中 12

解析ワークフロー

定義 7

カスタマーサポート 89

## ク

クラスター形成 30

## ケ

ゲノム参照 59

## コ

光学モジュール 4

コンパートメント

試薬コンパートメント 4

コンポーネント

光学モジュール 4

試薬カートリッジ 16

試薬コンパートメント 5

フローセル 15, 83

フローセルコンパートメント 4-5

## サ

サンプルシート

装置へのコピー 59

定義 7

変更 42

見つかりませんでした 70

サンプリシート

ランフォルダ内 82

## シ

シーケンス 30

システムアカウント名 77

システム設定 77

シッパーハンドル 5

試薬

キット 15

試薬カートリッジ 16

融解 32

検査 33

内容物 17

試薬コンパートメント 4-5

試薬チラー, 温度 10

試薬のロード

PR2 41

カートリッジ 42

消耗品 24

ラボラトリーグレード水 25

## ス

スタンバイ洗浄 57

ステータスアラートアイコン 9

## セ

センサーインジケーター 10

洗浄 57

シャットダウンの準備 62

待機状態にする準備 57

メンテナンス 54

予想量 76

ラン後 47

ラン後の洗浄設定 21

利点 47

洗浄量 76

## ソ

送液

洗浄 54, 57

トラブルシューティング 73-74

装置のシャットダウン 62

装置の待機 57

装置の電源を入れる 20

ソフトウェア

イニシャライズ 20

更新 61

装置上 8

ディスク領域確認 14

ラン実行時間 29

ソフトウェアの更新 61

ソフトウェア更新 22

## タ

タイルの番号付け 83

## テ

ディスク領域

確認 14



ディスク領域減少 70  
テクニカルサポート 89  
電源スイッチ 20  
電子メール警告 22  
テンプレート形成 13, 46  
テンプレートライン洗浄 47

## ト

ドメイン名 77  
トラブルシューティング  
RFID 71  
送液 74  
ラン固有のファイル 64  
ランセットアップエラー 70  
流量 73  
ログをバンドル 59-60, 64-65

## ニ

二次解析 12

## ネ

ネットワーク接続 70  
ネットワーク設定 77

## ハ

廃液ボトル 5  
パスワード 20  
パスワード, 変更 77

## フ

ファイルおよびフォルダの移動 59  
ファイルおよびフォルダのコピー 59  
ファイルおよびフォルダの削除 59  
フォルダの場所  
現在のラン用 44  
デフォルト設定 23  
フローセル  
概要 15  
キャップの色 16  
シングルレーン 13  
洗浄 37  
タイル 83

タイルの番号付け 83  
文字指示子 71  
フローセルクランプ 5  
フローセルコンパートメント 4-5  
フローセルドアセンサー 10  
文書 89

## ヘ

ヘルプ、Live Help 67  
ヘルプ, 技術的 89

## マ

マニフェストファイル  
装置へのコピー 59  
定義 7

## メ

メンテナンス洗浄 54

## ユ

ユーザー名 20

## ヨ

容量テスト 74

## ラ

ライブヘルプ 67  
ラボトリーグレード水ガイドライン  
25  
ランオプション 21-23  
ラン後の洗浄 47  
ラン実行時間 29  
ランセットアップ画面 36  
ランの一時停止 68  
ランの停止 69  
ランのモニタリング 45  
ランフォルダ  
一次解析ファイル 82  
仮の, 出力, 解析 80  
管理 59  
定義 7  
内容物 81  
命名 80

リ

リード長 29

リファレンスゲノム

    ファイル形式 7

流量, トラブルシューティング 73

レ

レシピ, 管理 59

ロ

ログをバンドル 59-60, 64-65

ワ

ワークフロー 30

    ラン実行時間 29

## テクニカルサポート

テクニカルサポートについては、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。

表6 イルミナ一般問合せ先

ウェブサイト	jp.illumina.com
電子メール	techsupport@illumina.com

表7 イルミナカスタマーサポート電話番号

地域	電話番号	地域	電話番号
北米	1.800.809.4566	台湾	806651752
日本	0800.111.5011	中国	400.635.9898
アイルランド	1.800.812949	デンマーク	80882346
イタリア	800.874909	ドイツ	0800.180.8994
英国	0800.917.0041	ニュージーランド	0800.451.650
オーストラリア	1.800.775.688	ノルウェー	800.16836
オーストリア	800.296575	フィンランド	800.918363
オランダ	800.0223859	フランス	800.91185
シンガポール	1.800.579.2745	ベルギー	800.81102
スイス	800.563118	香港	800960230
スウェーデン	20790181	その他の国	+44.1799.534000
スペイン	900.812168		

**製品安全データシート (SDS)** : イルミナのウェブサイトsupport.illumina.com\sds.htmlから入手できます。

**製品関連文書** : イルミナのウェブサイトからPDF形式でダウンロードできます。support.illumina.comにアクセスして製品を選び、**[Documentation & Literature]**を選択します。

