

NovaSeq 6000

Denature and Dilute Libraries Guide

概要	3
消耗品および機器	4
プロトコール A : シーケンスのためのライブラリーのプールと変性 (Standard ローディング)	5
プロトコール B : シーケンスのためのライブラリーのプールと変性 (Xp ローディング)	9
プロトコール C : TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーの変性および希釈方法 (Standard ローディング)	12
プロトコール D : TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーの変性および希釈方法 (Xp ローディング)	15
プロトコール E : TruSight Oncology 500 HT ライブラリーの変性および希釈方法 (Standard ローディング)	18
プロトコール F : TruSight Oncology 500 HT ライブラリーの変性および希釈方法 (Xp ローディング)	23
改訂履歴	30
テクニカルサポート	31



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を使用することのみを意図したものであり、その他の目的を意図したものではありません。本文書およびその内容を、イルミナの書面による事前同意を得ずにその他の目的で利用または配布してはならず、また方法を問わず、その他伝達、開示または複製してはなりません。イルミナは、本文書によって、自身の特許、商標、著作権またはコモンロー上の権利に基づくいかなるライセンスも譲渡せず、また第三者の同様の権利も譲渡しないものとします。

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

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

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

© 2020 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。

概要

このガイドでは、Illumina® NovaSeq 6000™ 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する方法について説明します。

このガイドは『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』（文書番号：1000000019358）とともに使用することを想定しています。

ライブラリーのガイドライン

すべての手法は、サポートされているライブラリー調製法に適用されますが、サポートされている NovaSeq 6000 の各アプリケーションに典型的なインサートサイズを持つことを想定しています。

- ▶ 最良の結果を得るため、ライブラリーをプールして変性させたら、ただちにシーケンスを行ってください。
- ▶ ライブラリーはアプリケーションに適したローディング濃度に希釈してください。ローディング濃度が低過ぎたり高過ぎたりすると、フィルターを通過するクラスターの割合（%PF）に悪影響を及ぼします。ライブラリー濃度が低いと、シーケンスによる重複リードが増加します。ライブラリー濃度が高すぎると、%PF が低下します。
- ▶ 最適な %PF を達成するには、正確なライブラリー定量と適切な品質管理が必要です。推奨事項については、ライブラリー調製キットの文書を参照してください。
- ▶ Xp プロトコールの場合は、空のライブラリーチューブをクラスターカートリッジの位置番号 8 にロードしてから、シーケンスランをセットアップしてください。空のライブラリーチューブはフローセルへ送液される前にコンディショニングミックスを調製するために使用されます。コンディショニングミックスは、シーケンスのクラスタリング効率を高める役割をします。

プロトコールの種類

ライブラリー調製の際に用いた手法に応じた、適切な変性および希釈プロトコールに従ってください。

- ▶ **Standard ローディング (プロトコール A)**：ライブラリーが、ライブラリー調製の文書で推奨されている標準的なライブラリー定量と品質管理の手順を用いてノーマライズされている場合。これらのライブラリーについては、5 ページの「[プロトコール A：シーケンスのためのライブラリーのプールと変性 \(Standard ローディング\)](#)」に従ってください。
- ▶ **Xp ローディング (プロトコール B)**：ライブラリーが、ライブラリー調製の文書で推奨されている標準的なライブラリー定量と品質管理の手順を用いてノーマライズされている場合。これらのライブラリーについては、9 ページの「[プロトコール B：シーケンスのためのライブラリーのプールと変性 \(Xp ローディング\)](#)」に従ってください。
- ▶ **TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリー (Standard ローディング - プロトコール C)**：Standard ローディングを使用する TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーについては、12 ページの「[プロトコール C：TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーの変性および希釈方法 \(Standard ローディング\)](#)」に従ってください。
- ▶ **TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリー (Xp ローディング - プロトコール D)**：Xp ローディングを使用する TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーについては、15 ページの「[プロトコール D：TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーの変性および希釈方法 \(Xp ローディング\)](#)」に従ってください。
- ▶ **TruSight Oncology 500 HT ライブラリー (Standard ローディング - プロトコール E)**：Standard ローディングを使用する TruSight Oncology 500 HT ライブラリーについては、18 ページの「[プロトコール E：TruSight Oncology 500 HT ライブラリーの変性および希釈方法 \(Standard ローディング\)](#)」に従ってください。
- ▶ **TruSight Oncology 500 HT ライブラリー (Xp ローディング - プロトコール F)**：Xp ローディングを使用する TruSight Oncology 500 HT ライブラリーについては、23 ページの「[プロトコール F：TruSight Oncology 500 HT ライブラリーの変性および希釈方法 \(Xp ローディング\)](#)」に従ってください。

ベストプラクティス

- ▶ 最良の結果を得るため、ライブラリーの変性と希釈の前に、SBS カートリッジとクラスターカートリッジの融解を始めます。手順については、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』（文書番号：1000000019358）を参照してください。

消耗品および機器

消耗品

以下の消耗品は、ライブラリーの変性と希釈に必要です。

消耗品	サプライヤー	目的
(プロトコール A および B) 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。
(プロトコール A および B) 10 mM Tris-HCl, pH 8.5	一般的なラボ用品サプライヤー	変性前のライブラリーとオプションの PhiX コントロールの希釈。
(プロトコール A および B) 400 mM Tris-HCl, pH 8.0	一般的なラボ用品サプライヤー	変性後のライブラリーとオプションの PhiX コントロールの中和。
(プロトコール C、D、E、および F) 1 M Tris-HCl, pH 8.0	一般的なラボ用品サプライヤー	変性後のライブラリーとオプションの PhiX コントロールの中和。
(プロトコール C、D、E、および F) RNase/DNase フリー水	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。 メンテナンスウォッシュ用の Tween 20 および次亜塩素酸ナトリウムの希釈。
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。
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 やライブラリーを希釈する際の溶液の混合。
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。
(プロトコール A および B) 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。 メンテナンスウォッシュ用の Tween 20 および次亜塩素酸ナトリウムの希釈。
(NovaSeq XP ワークフロー) 以下のキットのうちの 1 つ： ● NovaSeq XP 2-Lane Kit ● NovaSeq XP 4-Lane Kit	イルミナ： ● カタログ番号：20021664 ● カタログ番号：20021665	ライブラリーのフローセルへの手動ローディング： ● SP、S1、および S2 のフローセル用の 2 レーンキット ● S4 フローセル用の 4 レーンキット
(NovaSeq XP ワークフロー) 以下のキットのうちの 1 つ： ● NovaSeq XP 2-Lane Kit v1.5 ● NovaSeq XP 4-Lane Kit v1.5	イルミナ： ● カタログ番号：20043130 ● カタログ番号：20043131	ライブラリーのフローセルへの手動ローディング： ● SP、S1、および S2 のフローセル用の 2 レーンキット ● S4 フローセル用の 4 レーンキット
(NovaSeq XP ワークフロー) 0.5 mL および 1.7 mL チューブ	一般的なラボ用品サプライヤー	ExAmp 混合のために必要。
(NovaSeq XP ワークフロー) (オプション) 以下のマニフォールドパックのうちの 1 つ： ● NovaSeq XP 2-Lane Manifold Pack ● NovaSeq XP 4-Lane Manifold Pack	イルミナ： ● カタログ番号：20021666 ● カタログ番号：20021667	ライブラリーのフローセルへの手動ローディングのための予備の NovaSeq Xp マニフォールド。
(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。

ライブラリーと PhiX の変性と希釈用の次の消耗品は、TruSight Oncology 500 ctDNA Library Prep Kit と TruSight Oncology 500 HT Library Prep Kit で提供されます。

消耗品	目的
RSB	ライブラリーの希釈と、オプションの PhiX コントロールの希釈および変性用。
HP3	オプションの PhiX コントロールの変性用 2 N NaOH。

機器

以下の機器は、ビーズベースの方法を使用してノーマライズされているライブラリーの変性に使用します。

機器	サプライヤー
(プロトコール C、D、E、および F) 1.5 mL のマイクロチューブ用ヒートブロック	一般的なラボ用品サプライヤー

プロトコール A: シーケンスのためのライブラリーのプールと変性 (Standard ローディング)

ライブラリー調製の文書で推奨されている標準的なライブラリー定量手順と品質管理手順を使用してノーマライズされているライブラリーは、プロトコール A を使用して変性および希釈します。

Xp ローディングの場合は、9 ページの「プロトコール B: シーケンスのためのライブラリーのプールと変性 (Xp ローディング)」に進みます。

TSO500 ctDNA ライブラリーの場合は、12 ページの「プロトコール C: TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーの変性および希釈方法 (Standard ローディング)」または 15 ページの「プロトコール D: TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーの変性および希釈方法 (Xp ローディング)」に進みます。

TSO500 HT ライブラリーの場合は、18 ページの「プロトコール E: TruSight Oncology 500 HT ライブラリーの変性および希釈方法 (Standard ローディング)」または 23 ページの「プロトコール F: TruSight Oncology 500 HT ライブラリーの変性および希釈方法 (Xp ローディング)」に進みます。

ノーマライズされたライブラリープールの調製

以下の手順に従って、ライブラリーを適切な濃度にノーマライズした後に、プールしてください。同じフローセル上でシーケンスされるライブラリーは、単一のノーマライズされたプールに混合する必要があります。

- 1 アプリケーションおよびフローセルタイプごとの典型的なリード数と推奨プレックス数に関しては、以下の表を参照してください。

表 1 ライブラリーのプールプレックス推奨数

アプリケーション	フローセルタイプ	フローセルあたりのフィルターを通過するペアエンドリード数 (B)	レーンあたりのライブラリー数
ヒトゲノム	SP	1.3 ~ 1.6	~ 2
	S1	2.6 ~ 3.2	~ 4
	S2	6.6 ~ 8.2	~ 10
	S4	16 ~ 20	~ 24
エクソーム	SP	1.3 ~ 1.6	~ 20
	S1	2.6 ~ 3.2	~ 40
	S2	6.6 ~ 8.2	~ 100
	S4	16 ~ 20	~ 250

アプリケーション	フローセルタイプ	フローセルあたりのフィルターを通過するペアエンドリード数 (B)	レーンあたりのライブラリー数
トランスクリプトーム	SP	1.3 ~ 1.6	~ 16
	S1	2.6 ~ 3.2	~ 32
	S2	6.6 ~ 8.2	~ 82
	S4	16 ~ 20	~ 200

プーリングのためのライブラリーのノーマライズ

- 1 目標とする最終ローディング濃度に基づいて、プール済みライブラリーの適切な濃度を決定します。[6 ページの「推奨ローディング濃度」](#)を参照してください。

最終ローディング濃度 (pM)	プール済みライブラリーの濃度 (nM)
100	0.50
150	0.75
200	1
250	1.25
300	1.50
350	1.75
400	2
450	2.25
500	2.50

- 2 10 mM Tris-HCl (pH 8.5) を用いて、プール済みライブラリーを目的のライブラリー濃度にノーマライズします。
適切な濃度へのライブラリーの希釈の補助として、[イルミナウェブサイトの「Pooling Calculator」](#)を参照してください。

推奨ローディング濃度

最適な DNA 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。以下の表に、インサートサイズが 450 bp 以下のイルミナライブラリーを基準として、推奨される DNA ローディング濃度を示します。インサートサイズがより短ければ、推奨範囲のより低い方の濃度でライブラリーをロードしてください。450 bp を超えるライブラリーでは、より高いローディング濃度が必要になる場合があります。

注意

イルミナのライブラリー調製法以外で作成されたライブラリーの場合、最良の %PF を出す最適なシーディング濃度を得るために、その特定のライブラリータイプのための最適濃度の検討を最初に実施する必要があります。最適なローディング濃度が決定されたら、それ以降、同一のライブラリータイプに適用することができます。

表 2 Standard ワークフローの推奨ローディング濃度 (ソフトウェアバージョン 1.1 以降)

ライブラリータイプ	最終ローディング濃度 (pM)	プールのされたローディング濃度 (nM)
PhiX ¹	250	1.25
Illumina DNA PCR-free ライブラリープール	400 ~ 600 ²	2 ~ 3 ²
TruSeq DNA PCR-free ライブラリープール	175 ~ 350	0.875 ~ 1.75
DNA PCR 増幅ライブラリープール	300 ~ 600	1.5 ~ 3.0
シングルセル ³	250 ~ 500	1.25 ~ 2.5

¹ PhiX のみのランの場合。

² インサートサイズの中央値として 450 bp、DNA 質量として 660 g/mol、および ssQubit 濃度値に基づいて計算。

³ シングルセルは Xp ワークフローでのみ検証されています。

最終ローディング濃度を HiSeq™ X、HiSeq™ 4000、または HiSeq™ 3000 用に最適化している場合、NovaSeq 6000 には、その濃度の 1.5 倍を使用してください。例えば HiSeq X の最終ローディング濃度が 200 pM の場合、NovaSeq 6000 には 300 pM を使用してください。

ノーマライズ済みライブラリーのプールおよびオプションの PhiX コントロールの添加

- 1 ノーマライズされた各ライブラリーの適量を新たなマイクロチューブで混合し、最終的に以下の量になるようにします。

モード	最終量 (μL)
SP/S1	100
S2	150
S4	310

例えば、6 プレックスのライブラリープールで S2 モード利用の場合、同じ濃度にノーマライズされている各ライブラリーを 25 μL ずつ混合します。または、4 プレックスのライブラリープールで S1 モード利用の場合、ノーマライズされた未変性の各ライブラリーを 25 μL ずつ混合します。

- 2 (オプション) プールに使わなかった残りのライブラリーを -25°C ~ -15°C で保管します。
- 3 (オプション) 1% の未変性の PhiX を以下の要領で添加します。
 - a 10 mM Tris-HCl (pH 8.5) を用いて、10 nM PhiX を 2.5 nM に希釈します。
 - b 未変性の 2.5 nM PhiX の適切な量を未変性のライブラリープールのチューブに添加します。

モード	未変性の 2.5 nM PhiX (μL)	未変性のライブラリープール (μL)
SP/S1	0.6	100
S2	0.9	150
S4	1.9	310

PhiX を添加する場合、1% がバランスの良いライブラリーのための推奨量です。多様性の低いライブラリーでは、さらに多くの量が必要になる可能性があります。多様性の低いライブラリーに PhiX コントロールを用いるには、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。

NaOH の希釈 (用事調製)

シーケンス用のライブラリー変性のために、0.2 N NaOH は、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。



警告

変性の過程において、新しく希釈した 0.2 N NaOH が不可欠です。変性が正しく行われないと、収量が低下する可能性があります。

- 1 マイクロチューブに以下の分量を混合し、1 N NaOH を 0.2 N に希釈します。

表 3 SP/S1/S2 モード

試薬	1 フローセルの分量 (μL)	2 フローセルの分量 (μL)
ラボラトリグレード水	40	80
ストック 1 N NaOH	10	20

分量としては、1 フローセルの場合は 0.2 N NaOH が 50 μL、2 フローセルの場合は 0.2 N NaOH が 100 μL となります。

表 4 S4 モード

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	80	160
ストック 1 N NaOH	20	40

分量としては、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 数回転倒混和するか、しっかりとボルテックスします。チューブに蓋をしておき、**12 時間**以内に使用します。

ライブラリープールおよびオプションの PhiX コントロールの変性

- 1 0.2 N NaOH を未変性のライブラリープールおよびオプションの PhiX の入ったチューブに以下のように添加します。

フローセル	0.2 N NaOH	未変性のライブラリープール (μL)	最終量
SP/S1	25	100	125 μL、または 125.6 μL (PhiX 添加)
S2	37	150	187 μL、または 187.9 μL (PhiX 添加)
S4	77	310	387 μL、または 388.9 μL (PhiX 添加)

- 2 キャップを閉じた後、短時間ボルテックスします。
- 3 最大 1 分間、280 × g で遠心します。
- 4 変性させるため、室温で 8 分間インキュベートします。
- 5 400 mM の Tris-HCl (pH 8.0) を以下のように添加して中和します。

モード	400 mM Tris-HCl, pH 8.0 (μL)	最終量
SP/S1	25	150 μL、または 150.6 μL (PhiX 添加)
S2	38	225 μL、または 225.9 μL (PhiX 添加)
S4	78	465 μL、または 466.9 μL (PhiX 添加)

- 6 キャップを閉じた後、短時間ボルテックスします。
- 7 最大 1 分間、280 × g で遠心します。
- 8 NovaSeq 6000 Reagent Kit に付属しているライブラリーチューブに、変性済みライブラリー、または変性済みライブラリーと PhiX の全量を移します。
- 9 ただちに、クラスターカートリッジにライブラリーチューブをセットし、ランのセットアップに進みます。ライブラリーチューブを含む試薬カートリッジは、**30 分**以内に装置にローディングする必要があります。
- 10 **(オプション)** ただちに進められない場合は、ライブラリーチューブに蓋をして、-25°C ~ -15°C で保管します (最長 3 週間)。解凍後は再冷凍しないでください。



警告

ライブラリーチューブの保管は、必要な場合にのみ行ってください。-25°C ~ -15°C で長期保管すると重複リードが増える可能性があります、その結果、収量が低下します。



注意

ライブラリーを変性させて希釈し、オプションの PhiX コントロールを調製した後は、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』(文書番号: 1000000019358) の「Standard ワークフロー」の章の「SBS カートリッジおよびクラスターカートリッジの準備」に進みます。

プロトコール B：シーケンスのためのライブラリーのプールと変性（Xp ローディング）

ライブラリー調製の文書で推奨されている標準的なライブラリー定量手順と品質管理手順を使用してノーマライズされているライブラリーは、プロトコール B を使用して変性および希釈します。アドレス可能なレーンのローディングについては、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』（文書番号：1000000019358）の「NovaSeq Xp ワークフロー」の章を参照してください。

Standard ローディングの場合は、5 ページの「プロトコール A：シーケンスのためのライブラリーのプールと変性（Standard ローディング）」に進みます。

TSO500 ctDNA ライブラリーの場合は、12 ページの「プロトコール C：TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーの変性および希釈方法（Standard ローディング）」または 15 ページの「プロトコール D：TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーの変性および希釈方法（Xp ローディング）」に進みます。

TSO500 HT ライブラリーの場合は、18 ページの「プロトコール E：TruSight Oncology 500 HT ライブラリーの変性および希釈方法（Standard ローディング）」または 23 ページの「プロトコール F：TruSight Oncology 500 HT ライブラリーの変性および希釈方法（Xp ローディング）」に進みます。

ノーマライズされたライブラリープールの調製

以下の手順に従って、ライブラリーを適切な濃度にノーマライズした後に、プールしてください。同じレーン上でシーケンスされるライブラリーは、単一のプールに混合する必要があります。ノーマライズ済みプールの、それぞれのレーンごとに必要な総容量を以下の表に示します。同一プールを 1 レーン以上シーケンスする場合は、表 5 の値にレーン数を掛けてください。

表 5 プールされたライブラリーの総容量

モード	レーンあたりの総プール量 (μL)
SP/S1	18
S2	22
S4	30

Xp ワークフローの場合、データ出力はレーンごとに得られますが、Standard ワークフローでは全レーンが集約されます。その結果、Xp ワークフローのライブラリープール内のライブラリー数は、Standard ワークフローと比較して少なくなります。

アプリケーションおよびフローセルタイプごとの典型的なリード数と推奨プレックス数に関しては、以下の表を参照してください。

表 6 推奨されるライブラリーのプールプレックス数

アプリケーション	フローセルタイプ	レーンあたりのフィルターを通過するペアエンドリード数 (B)	レーンあたりのライブラリー数
ヒトゲノム	SP	0.65 ~ 0.8	1
	S1	1.3 ~ 1.6	~ 2
	S2	3.3 ~ 4.1	~ 5
	S4	4.0 ~ 5.0	~ 6
エクソーム	SP	0.65 ~ 0.8	~ 10
	S1	1.3 ~ 1.6	~ 20
	S2	3.3 ~ 4.1	~ 50
	S4	4.0 ~ 5.0	~ 62

アプリケーション	フローセルタイプ	レーンあたりのフィルターを通過するペアエンドリード数 (B)	レーンあたりのライブラリー数
トランスクリプトーム	SP	0.65 ~ 0.8	~ 8
	S1	1.3 ~ 1.6	~ 16
	S2	3.3 ~ 4.1	~ 41
	S4	4.0 ~ 5.0	~ 50

プーリングのためのライブラリーのノーマライズ

- 1 目標とする最終ローディング濃度に基づいて、プール済みライブラリーの適切な濃度を決定します。
10 ページの「推奨ローディング濃度」を参照してください。

最終ローディング濃度 (pM)	プール済みライブラリーの濃度 (nM)
100	0.5
150	0.75
200	1.0
250	1.25
300	1.5
350	1.75
400	2.0
450	2.25
500	2.5

- 2 10 mM Tris-HCl (pH 8.5) を用いて、プール済みライブラリーを目的のライブラリー濃度にノーマライズします。
適切な濃度へのライブラリーの希釈の補助として、
support.illumina.com/help/pooling-calculator/pooling-calculator.html の「Pooling Calculator」を参照してください。

推奨ローディング濃度

最適な DNA 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。以下の表に、インサートサイズが 450 bp 以下のイルミナライブラリーを基準として推奨される DNA ローディング濃度を示します。インサートサイズがより短ければ、推奨範囲のより低い方の濃度でライブラリーをロードしてください。450 bp を超えるライブラリーでは、より高いローディング濃度が必要になる場合があります。

表 7 推奨ローディング濃度

ライブラリータイプ	最終ローディング濃度 (pM)	プールされたローディング濃度 (nM)
PhiX ¹	100	0.5
Illumina DNA PCR-free ライブラリー プール	300 ~ 400 ²	1.5 ~ 2.0 ²
TruSeq DNA PCR-free ライブラリー プール	115 ~ 235	0.575 ~ 1.175
DNA PCR 増幅ライブラリープール	200 ~ 400	1.0 ~ 2.0
シングルセル	175 ~ 275	0.875 ~ 1.375

¹ PhiX のみのランの場合。

² インサートサイズの中央値として 450 bp、DNA 質量として 660 g/mol、および ssQubit 濃度値に基づいて計算。

HiSeq™ X、HiSeq™ 4000、または HiSeq™ 3000 用にローディング濃度を最適化している場合、NovaSeq XP ワークフローには、ほぼ同じ濃度を使用してください。NovaSeq Standard ワークフロー用にローディング濃度を最適化している場合、NovaSeq XP ワークフローにはその 2/3 程度の濃度を使用してください。

**注意**

最適なシーディング濃度を得るために、ライブラリーごとに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が決定されたら、同一のライブラリータイプに適用することができます。

ノーマライズ済みライブラリーのプールおよびオプションの PhiX コントロールの添加

- 1 ノーマライズされた各ライブラリーの適量を新たなマイクロチューブで混合し、以下に示すレーンごとの適切な最終量になるようにします。

モード	レーンあたりの総プール量 (μL)
SP/S1	18
S2	22
S4	30

例えば、6 プレックスのライブラリープールで S4 モード利用の場合、同じ濃度にノーマライズされている各ライブラリーを 5 μL ずつ混合します。

- 2 (オプション) プールに使わなかった残りのライブラリーを -25°C ~ -15°C で保管します。
- 3 (オプション) 1% の未変性の PhiX を以下の要領で添加します。

- a 10 mM Tris-HCl (pH 8.5) を用いて、10 nM PhiX を 0.25 nM に希釈します。
- b PhiX の適切な量を未変性のライブラリープールのチューブに添加します。

モード	未変性の 0.25 nM PhiX (μL)	未変性のライブラリープール (μL)
SP/S1	0.7	18
S2	0.8	22
S4	1.1	30

PhiX を添加する場合、1% がバランスの良いライブラリーのための推奨量です。多様性の低いライブラリーでは、さらに多くの量が必要になる可能性があります。多様性の低いライブラリーに PhiX コントロールを用いるには、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。

NaOH の希釈 (用事調製)

シーケンス用のライブラリー変性のために、0.2 N NaOH は、使用直前に**用事調製**します。NaOH の最終濃度に影響するおそれのあるピペット操作エラーを最低限に抑えるために、希釈した NaOH は、フローセルあたり 30 μL 以上調製してください。デュアルフローセルの場合は、希釈した NaOH を 60 μL 調製します。

**警告**

変性プロセスにとって、新しく希釈した 0.2 N NaOH が不可欠です。変性が正しく行われないと、収量が低下する可能性があります。

- 1 フローセルが 1 つの場合は、マイクロチューブに以下の分量を混合し、1 N NaOH を 0.2 N に希釈します。
 - ▶ ラボラトリーグレード水 (24 μL)
 - ▶ ストック 1 N NaOH (6 μL)
 分量としては、30 μL の 0.2 N NaOH になります。フローセルが 2 つの場合は、分量を 2 倍にしてください。
- 2 数回転倒混和するか、しっかりとボルテックスします。チューブに蓋をしておき、**12 時間**以内に使用します。

ライブラリープールおよびオプションの PhiX コントロールの変性

- 0.2 N NaOH を未変性のライブラリープールおよびオプションの PhiX の入ったチューブに以下のように添加します。

モード	0.2 N NaOH (μL)	未変性のライブラリープール (μL)	最終量
SP/S1	4.0	18.0	22.0 μL、または 22.7 μL (PhiX 添加)
S2	5.0	22.0	27.0 μL、または 27.8 μL (PhiX 添加)
S4	7.0	30.0	37.0 μL、または 38.1 μL (PhiX 添加)

- キャップを閉じた後、短時間ボルテックスします。
- 最長 1 分間、最大 280 × g で遠心します。
- 変性させるため、室温で 8 分間インキュベートします。
- 以下の要領で 400 mM の Tris-HCl (pH 8.0) を添加して中和します。

モード	400 mM Tris-HCl, pH 8.0 (μL)	最終量
SP/S1	5.0	27.0 μL、または 27.7 μL (PhiX 添加)
S2	6.0	33.0 μL、または 33.8 μL (PhiX 添加)
S4	8.0	45.0 μL、または 46.1 μL (PhiX 添加)

- キャップを閉じた後、短時間ボルテックスします。
- 最長 1 分間、最大 280 × g で遠心します。
- 変性済みのライブラリーは、ExAmp マスターミックスの添加準備ができるまで氷上に静置します。
- (オプション) ただちに進められない場合は、チューブに蓋をして、-25°C ~ -15°C で保管します (最長 3 週間)。解凍後は再冷凍しないでください。



警告

変性済みのライブラリープールの保管は、必要な場合にのみ行ってください。長期間保管すると重複リードが増加する可能性があり、その結果、収量が低下します。



注意

ライブラリーを変性させて希釈し、オプションの PhiX コントロールを調製した後は、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』(文書番号:1000000019358) の「Xp ワークフロー」の章の「フローセルおよびドックの準備」に進みます。

プロトコル C : TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーの変性および希釈方法 (Standard ローディング)

TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーのための NovaSeq Standard ワークフローは、NovaSeq 6000 システムへのローディングを目的としたライブラリーの変性と希釈に使用されます。アドレス可能なレーンのローディングについては、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』(文書番号:1000000019358) の「NovaSeq Xp ワークフロー」の章を参照してください。TruSight Oncology 500 ctDNA ワークフローを使用して調製したライブラリーは、サンプルプーリングに適した開始濃度にノーマライズがされています。

TSO500 ctDNA ライブラリーを S2 モードまたは S4 モードでシーケンスする場合は、プロトコル C を使用してください。S2 フローセルの時、最大 8 ライブラリー、S4 フローセルの時、最大 16 ライブラリーをシーケンスできます。

Xp ローディングの場合は、15 ページの「プロトコル D : TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーの変性および希釈方法 (Xp ローディング)」に進みます。

PhiX コントロールの調製（オプション）

事前準備

- 1 RSB を 2°C ~ 8°C または -25°C ~ -15°C の保管場所から取り出し、室温に戻します。
- 2 10 nM PhiX のチューブを融解します（10 µL / チューブ）。
- 3 マイクロチューブに dHP3（diluted HP3）と記載します。
- 4 マイクロチューブに dTris（diluted Tris-HCl）と記載します。
- 5 マイクロチューブに dPhiX（diluted PhiX）と記載します。

NaOH の希釈（用事調製）

- 1 HP3 をボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 2 dHP3 チューブに以下の容量を混ぜ合わせます。
 - ▶ RNase/DNase フリー水（32.5 µL）
 - ▶ HP3（7.5 µL）
- 3 dHP3 をボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

Tris-HCl の希釈（用事調製）

- 1 dTris チューブに以下の容量を混ぜ合わせます。
 - ▶ RNase/DNase フリー水（25.0 µL）
 - ▶ 1 M Tris-HCl, pH 8.0（15.0 µL）
- 2 dTris をボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

PhiX の希釈

- 1 RSB をボルテックスして混合します。
- 2 PhiX コントロールをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 3 dPhiX チューブに以下の容量を混ぜ合わせます。
 - ▶ RSB（2.0 µL）
 - ▶ PhiX コントロール（6.0 µL）
- 4 dPhiX チューブをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 5 **（オプション）** dPhiX は -25°C ~ -15°C で最長 3 カ月間保存できます。

PhiX の変性

- 1 dPhiX チューブに dHP3 を 8 µL 添加します。
- 2 dHP3 チューブは廃棄します。
- 3 dPhiX チューブをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 4 室温で 5 分間インキュベートします。
- 5 ただちに dPhiX チューブに dTris を 8 µL 添加し、反応を中和します。
- 6 dTris チューブは廃棄します。

- 7 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
PhiX の最終濃度は 2.5 nM です。
- 8 (オプション) 変性済みの 2.5 nM PhiX を -25°C ~ -15°C で保管します (最長 2 週間)。

ノーマライズ済みライブラリーのプール

事前準備

フローセルあたり、プールあたりでサポートされるサンプル数の詳細については、イルミナのウェブサイトにある TruSight Oncology 500 ctDNA のサポートページを参照してください。

- 1 ノーマライズ済みライブラリー (NL) プレートが保管されていた場合は、室温に融解した後で、プレートを 280 × g で 1 分間遠心します。
- 2 ヒートブロックを 96°C に予熱します。
- 3 アイスバケツを準備します。

手順

- 1 ピペットを 30 µL に設定した後、NL プレートのライブラリーを 5 回静かにピペティングして混合します。
 - ▶ 各ライブラリーに新しいチップを使用します。
 最適なライブラリーシーケンス性能を得るために、ライブラリーを上記の指示どおりに混合してください。
- 2 1.5 mL のスクリューキャップタイプのマイクロチューブに PDL (Pooled DNA Libraries) と記載します。
- 3 ノーマライズ済みの各 DNA ライブラリーを等量ずつ NL プレートから PDL チューブに移し、以下のいずれかの量になるようにします。

モード	プールの推奨量 (µL)
S2	100
S4	200

例えば、8 プレックスのライブラリープールを S2 モードで利用する場合、同じ濃度にノーマライズ済みの各ライブラリーを 12.5 µL ずつ混合します。

- 4 PDL チューブをボルテックスして混合します。
- 5 PDL チューブを短時間遠心します。

ノーマライズ済みライブラリーの変性

- 1 ヒートブロックを使用して 96°C で PDL チューブを 2 分間インキュベートします。
- 2 すぐに氷上に 5 分間置きます。
- 3 PDL チューブをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 4 PDL チューブを氷上に置きます。

安全なストップポイント

ここで中断する場合は、変性済みライブラリーを -25°C ~ -15°C で保管します (最長 30 日間)。凍結したライブラリープールを使用するには、チューブを融解し、14 ページの「ノーマライズ済みライブラリーの変性」を再度行ってから、次の手順に進んでください。

ライブラリーの希釈とオプションの PhiX コントロールの添加

RSB の準備

- 1 RSB を 2°C ~ 8°C または -25°C ~ -15°C の保管場所から取り出し、室温に戻します。

変性済み 2.5 nM PhiX の調製

- 1 変性済み PhiX を保管していた場合は、変性済み 2.5 nM PhiX を -25°C ~ -15°C の保管場所から取り出し、室温で融解します。
- 2 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

ライブラリーの希釈

- 1 新しい 1.5 mL のマイクロチューブに DIL1 (Dilution 1) と記載します。
- 2 PDL チューブをボルテックスして混合します。
- 3 PDL チューブを短時間遠心します。
- 4 PDL と RSB の適量を以下のように DIL1 チューブに添加します。

モード	PDL (μL)	RSB (μL)	最終量 (μL)
S2	65	160	225
S4	134	331	465

- 5 (オプション) 変性済み 2.5 nM PhiX の適量を以下のように DIL1 チューブに添加します。

モード	2.5 nM PhiX (μL)	最終量 (μL)
S2	0.9	225.9
S4	1.9	466.9

- 6 DIL1 チューブをボルテックスして混合します。
- 7 DIL1 チューブを短時間遠心します。
- 8 NovaSeq 6000 Reagent Kit に付属しているライブラリーチューブに、DIL1 の全量を移します。
- 9 すぐに、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』(文書番号: 1000000019358) の「Standard ワークフロー」の章の「SBS カートリッジおよびクラスターカートリッジの準備」に進みます。
ライブラリーチューブを含む試薬カートリッジは、**30 分以内**に装置にローディングする必要があります。

プロトコール D: TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーの変性および希釈方法 (Xp ローディング)

TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーのための NovaSeq Xp ワークフローは、NovaSeq 6000 システムへのアドレス可能なローディングを目的としたライブラリーの変性と希釈に使用されます。TruSight Oncology 500 ctDNA ワークフローを使用して調製したライブラリーは、サンプルプーリングに適した開始濃度にノーマライズがされています。アドレス可能なレーンへのローディングについては、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』(文書番号: 1000000019358) の「NovaSeq Xp ワークフロー」の章を参照してください。

アドレス可能なレーンローディングを用いて TSO500 ctDNA ライブラリーを S4 モードでシーケンスする場合は、プロトコール D を使用してください。レーンあたり最大 6 つのライブラリーをシーケンスできます。

Standard ローディングの場合は、12 ページの「プロトコール C : TruSight Oncology 500 ctDNA ライブラリーの変性および希釈方法 (Standard ローディング)」に進みます。

PhiX コントロールの調製 (オプション)

事前準備

- 1 RSB を 2°C ~ 8°C または -25°C ~ -15°C の保管場所から取り出し、室温に戻します。
- 2 10 nM PhiX のチューブを融解します (10 µL / チューブ)。
- 3 マイクロチューブに dHP3 (diluted HP3) と記載します。
- 4 マイクロチューブに dTris (diluted Tris-HCl) と記載します。
- 5 マイクロチューブに dPhiX (diluted PhiX) と記載します。

NaOH の希釈 (用事調製)

- 1 HP3 をボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 2 dHP3 チューブに以下の容量を混ぜ合わせます。
 - ▶ RNase/DNase フリー水 (32.5 µL)
 - ▶ HP3 (7.5 µL)
- 3 dHP3 をボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

Tris-HCl の希釈 (用事調製)

- 1 dTris チューブに以下の容量を混ぜ合わせます。
 - ▶ RNase/DNase フリー水 (25.0 µL)
 - ▶ 1 M Tris-HCl, pH 8.0 (15.0 µL)
- 2 dTris をボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

PhiX の希釈

- 1 RSB をボルテックスして混合します。
- 2 PhiX コントロールをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 3 dPhiX チューブに以下の容量を混ぜ合わせます。
 - ▶ RSB (2.0 µL)
 - ▶ PhiX コントロール (6.0 µL)
- 4 dPhiX チューブをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 5 **(オプション)** dPhiX は -25°C ~ -15°C で最長 3 カ月間保存できます。

PhiX の変性

- 1 dPhiX チューブに dHP3 を 8 µL 添加します。
- 2 dHP3 チューブは廃棄します。
- 3 dPhiX チューブをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 4 室温で 5 分間インキュベートします。
- 5 ただちに dPhiX チューブに dTris を 8 µL 添加し、反応を中和します。

- 6 dTris チューブは廃棄します。
- 7 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 8 希釈して変性させた PhiX 溶液に RSB を 216 μ L 添加します。
- 9 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
PhiX の最終濃度は 0.25 nM です。
- 10 (オプション) 変性済みの 0.25 nM PhiX を $-25^{\circ}\text{C} \sim -15^{\circ}\text{C}$ で保管します (最長 2 週間)。

ノーマライズ済みライブラリーのプール

事前準備

フローセルあたり、プールあたりでサポートされるサンプル数の詳細については、イルミナのウェブサイトにある TruSight Oncology 500 ctDNA のサポートページを参照してください。

- 1 ノーマライズされたライブラリー (NL) プレートが保管されていた場合は、室温に融解した後で、プレートを $280 \times g$ で 1 分間遠心します。
- 2 ヒートブロックを 96°C に予熱します。
- 3 アイスバケツを準備します。

手順

- 1 ピペットを 30 μ L に設定した後、NL プレートのライブラリーを 5 回静かにピペティングして混合します。
▶ 各ライブラリーに新しいチップを使用します。
最適なライブラリーシーケンス性能を得るために、ライブラリーを上記の指示どおりに混合してください。
- 2 1.5 mL のスクリーキャップタイプのマイクロチューブに PDL_L1 (Pooled DNA Libraries_Lane 1) と記載します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します (表 8 を参照)。

表 8 PDL チューブの命名規則

フローセル	レーン 1	レーン 2	レーン 3	レーン 4
S4	PDL_L1	PDL_L2	PDL_L3	PDL_L4

- 3 ノーマライズ済みの各 DNA ライブラリー 5 μ L を NL プレートから PDL チューブに移し、追加の各レーンに対して同じ処理を繰り返します。
- 4 各 PDL チューブをボルテックスして混合します。
- 5 各 PDL チューブを短時間遠心します。

ノーマライズ済みライブラリーの変性

- 1 ヒートブロックを使用して 96°C で各 PDL チューブを 2 分間インキュベートします。
- 2 すぐに氷上に 5 分間置きます。
- 3 各 PDL チューブをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 4 PDL チューブを氷上に置きます。

安全なストップポイント

ここで中断する場合は、変性済みライブラリーを $-25^{\circ}\text{C} \sim -15^{\circ}\text{C}$ で保管します (最長 30 日間)。凍結したライブラリープールを使用するには、チューブを融解し、17 ページの「ノーマライズ済みライブラリーの変性」を再度行ってから、次の手順に進んでください。

ライブラリーの希釈とオプションの PhiX コントロールの添加

RSB の準備

- 1 RSB を 2°C ~ 8°C または -25°C ~ -15°C の保管場所から取り出し、室温に戻します。

変性済み 0.25 nM PhiX の調製

- 1 変性済み PhiX を保管していた場合は、変性済み 0.25 nM PhiX を -25°C ~ -15°C の保管場所から取り出し、室温で融解します。
- 2 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

ライブラリーの希釈

- 1 新しい 1.5 mL のスクリュウキャップタイプのマイクロチューブに DIL1_L1 (Dilution 1_Lane 1) と記載します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します (表 9 を参照)。

表 9 DIL1 チューブの命名規則

フローセル	レーン 1	レーン 2	レーン 3	レーン 4
S4	DIL1_L1	DIL1_L2	DIL1_L3	DIL1_L4

- 2 PDL チューブをボルテックスして混合します。
- 3 PDL チューブを短時間遠心します。
- 4 PDL と RSB の適量を以下のように各 DIL1 チューブに移します。

モード	PDL (μL)	RSB (μL)	最終量 (μL)
S4	6.8	38.2	45

- 5 (オプション) 変性済み 0.25 nM PhiX の適量を以下のように各 DIL1 チューブに添加します。

モード	0.25 nM PhiX (μL)	最終量 (μL)
S4	1.1	46.1

- 6 DIL1 チューブをボルテックスして混合します。
- 7 DIL1 チューブを短時間遠心します。
- 8 ライブラリーを変性させて希釈し、オプションの PhiX コントロールを調製した後は、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』(文書番号: 1000000019358) の「Xp ワークフロー」の章の「フローセルおよびドックの準備」に進みます。

プロトコール E: TruSight Oncology 500 HT ライブラリーの変性および希釈方法 (Standard ローディング)

TruSight Oncology 500 HT ライブラリーのための NovaSeq Standard ワークフローは、NovaSeq 6000 システムへのローディングを目的としたライブラリーの変性と希釈に使用されます。Standard ローディングについては、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』(文書番号: 1000000019358) の「NovaSeq Standard ワークフロー」の章を参照してください。TruSight Oncology 500 HT ワークフローを使用して調製したライブラリーは、サンプルプーリングに適した開始濃度にノーマライズがされています。

Standard ローディングを使用して TSO500 HT ライブラリーを SP、S1、S2、または S4 モードでシーケンスする場合は、プロトコール E を使用してください。SP フローセルの時、最大 16 サンプル、S1 フローセルの時、最大 32 サンプル、S2 フローセルの時、最大 72 サンプル、S4 フローセルの時、最大 192 サンプルをシーケンスできます。

フローセルあたり、プールあたりでサポートされるサンプル数の詳細については、イルミナのウェブサイトにある TruSight Oncology 500 HT のサポートページを参照してください。

Xp ローディングの場合は、[23 ページの「プロトコール F : TruSight Oncology 500 HT ライブラリーの変性および希釈方法 \(Xp ローディング\)」](#)に進みます。

PhiX コントロールの調製 (オプション)

事前準備

- 1 RSB を 2°C ~ 8°C または -25°C ~ -15°C の保管場所から取り出し、室温に戻します。
- 2 10 nM PhiX のチューブを融解します (10 µL / チューブ)。
- 3 マイクロチューブに dHP3 (diluted HP3) と記載します。
- 4 マイクロチューブに dTris (diluted Tris-HCl) と記載します。
- 5 マイクロチューブに dPhiX (diluted PhiX) と記載します。

NaOH の希釈 (用事調製)

- 1 HP3 をボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 2 dHP3 チューブに以下の容量を混ぜ合わせます。
 - ▶ RNase/DNase フリー水 (32.5 µL)
 - ▶ HP3 (7.5 µL)
- 3 dHP3 をボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

Tris-HCl の希釈 (用事調製)

- 1 dTris チューブに以下の容量を混ぜ合わせます。
 - ▶ RNase/DNase フリー水 (25.0 µL)
 - ▶ 1 M Tris-HCl, pH 8.0 (15.0 µL)
- 2 dTris をボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

PhiX の希釈

- 1 RSB をボルテックスして混合します。
- 2 PhiX コントロールをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 3 dPhiX チューブに以下の容量を混ぜ合わせます。
 - ▶ RSB (2.0 µL)
 - ▶ PhiX コントロール (6.0 µL)
- 4 dPhiX チューブをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 5 **(オプション)** dPhiX は -25°C ~ -15°C で最長 3 カ月間保存できます。

PhiX の変性

- 1 dPhiX チューブに dHP3 を 8 µL 添加します。

- 2 dHP3 チューブは廃棄します。
- 3 dPhiX チューブをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 4 室温で5分間インキュベートします。
- 5 ただちに dPhiX チューブに dTris を 8 μ L 添加し、反応を中和します。
- 6 dTris チューブは廃棄します。
- 7 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
PhiX の最終濃度は 2.5 nM です。
- 8 **(オプション)** 変性済みの 2.5 nM PhiX を -25°C ~ -15°C で保管します (最長 2 週間)。

ノーマライズ済みライブラリーのプール

事前準備

フローセルあたり、プールあたりでサポートされるサンプル数の詳細については、イルミナのウェブサイトにある TruSight Oncology 500 HT のサポートページを参照してください。

- 1 ノーマライズ済みライブラリー (NL) プレートが保管されていた場合は、室温に融解した後で、プレートを $280 \times g$ で 1 分間遠心します。
- 2 ヒートブロックを 96°C に予熱します。
- 3 アイスバケツを準備します。

手順

- 1 マルチチャンネルピペットを 30 μ L に設定した後、NL プレートのライブラリーを 5 回静かにピペッティングして混合します。
 - ▶ 各ライブラリーに新しいチップを使用します。
プーリング前にライブラリーを十分に混合しないと、ライブラリーのシーケンス性能が損なわれます。
- 2 次のいずれかのオプションを選択して、ノーマライズ済みライブラリーをプールします。
 - ▶ RNA サンプルと DNA サンプルに由来するライブラリーを同時にシーケンスするには、[20 ページの「RNA と DNA のプール」](#)を参照してください。
 - ▶ DNA サンプルに由来するライブラリーのみをシーケンスするには、[21 ページの「DNA のみのプール」](#)を参照してください。

RNA と DNA のプール

- 1 1.5 mL のスクリーキャップタイプのマイクロチューブに PRL (Pooled RNA Libraries) と記載します。
 - ▶ 41 以上の RNA (cDNA) ライブラリーをプーリングする場合は、追加の 1.5 mL のスクリーキャップタイプのマイクロチューブに TPRL (Transferred Pooled RNA Libraries) と記載します。
- 2 1.5 mL のスクリーキャップタイプのマイクロチューブに PDL (Pooled DNA Libraries) と記載します。
 - ▶ 41 以上の DNA ライブラリーをプーリングする場合は、追加の 1.5 mL のスクリーキャップタイプのマイクロチューブに TPDL (Transferred Pooled DNA Libraries) と記載します。
- 3 ノーマライズ済み各 RNA ライブラリー 5 μ L を NL プレートから PRL チューブに移します。
- 4 ノーマライズ済み各 DNA ライブラリー 5 μ L を NL プレートから PDL チューブに移します。
- 5 各チューブをボルテックスして混合します。
- 6 各チューブを短時間遠心します。

- 7 PRL チューブに 41 以上の RNA ライブラリーが含まれている場合は、200 μ L を PRL チューブから TPRL チューブに移した後、PRL チューブを廃棄します。
- 8 PDL チューブに 41 以上の DNA ライブラリーが含まれている場合は、200 μ L を PDL チューブから TPDL チューブに移した後、PDL チューブを廃棄します。
- 9 [21 ページの「ノーマライズ済みライブラリーの変性」](#)に進みます。

DNA のみのプール

- 1 1.5 mL のスクリュウキャップタイプのマイクロチューブに PDL (Pooled DNA Libraries) と記載します。
 - ▶ 41 以上の DNA ライブラリーをプーリングする場合は、追加の 1.5 mL のスクリュウキャップタイプのマイクロチューブに TPDL (Transferred Pooled DNA Libraries) と記載します。
- 2 ノーマライズされた各 DNA ライブラリー 5 μ L を NL プレートから PDL チューブに移します。
- 3 PDL チューブをボルテックスして混合します。
- 4 PDL チューブを短時間遠心します。
- 5 PDL チューブに 41 以上の DNA ライブラリーが含まれている場合は、200 μ L を PDL チューブから TPDL チューブに移した後、PDL チューブを廃棄します。

ノーマライズ済みライブラリーの変性

- 1 以下のチューブをそれぞれ短時間ボルテックスして遠心します。
 - ▶ PRL (RNA ライブラリーが 40 以下) または TPRL (RNA ライブラリーが 41 以上)
 - ▶ PDL (DNA ライブラリーが 40 以下) または TPDL (DNA ライブラリーが 41 以上)
- 2 ヒートブロックを使用して 96°C で 2 分間インキュベートします。
- 3 すぐに氷上に 5 分間置きます。
- 4 各チューブをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 5 チューブを氷上に置きます。

安全なストップポイント

ここで中断する場合は、変性済みライブラリーを -25°C ~ -15°C で保管します (最長 30 日間)。凍結したライブラリープールを使用するには、チューブを融解し、[26 ページの「ノーマライズ済みライブラリーの変性」](#)を再度行ってから、次の手順に進んでください。

ライブラリーの希釈とオプションの PhiX コントロールの添加

RSB の準備

- 1 RSB を 2°C ~ 8°C または -25°C ~ -15°C の保管場所から取り出し、室温に戻します。

変性済み 2.5 nM PhiX の調製

- 1 変性済み PhiX を保管していた場合は、変性済み 2.5 nM PhiX を -25°C ~ -15°C の保管場所から取り出し、室温に融解します。
- 2 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

ライブラリーの希釈

- 1 新しい 1.5 mL のマイクロチューブに DIL1 (Dilution 1) と記載します。

- 2 次のいずれかのオプションを選択して、ライブラリーを希釈します。
 - ▶ RNA サンプルと DNA サンプルに由来するライブラリーを同時にシーケンスするには、22 ページの「RNA ライブラリーと DNA ライブラリーの希釈」を参照してください。
 - ▶ DNA サンプルに由来するライブラリーのみをシーケンスするには、23 ページの「DNA ライブラリーのための希釈」を参照してください。

RNA ライブラリーと DNA ライブラリーの希釈

- 1 以下のタイプのチューブをそれぞれ短時間ボルテックスして遠心します。
 - ▶ PRL (RNA ライブラリーが 40 以下) または TPRL (RNA ライブラリーが 41 以上)
 - ▶ PDL (DNA ライブラリーが 40 以下) または TPDL (DNA ライブラリーが 41 以上)
- 2 変性済み PRL または TPRL の適量を DIL1 チューブに移します。

モード	PRL または TPRL (μL)
SP/S1	10.4
S2	15.6
S4	32.2

- 3 変性済み PDL または TPDL の適量を DIL1 チューブに移します。

モード	PDL または TPDL (μL)	最終量 (μL)
SP/S1	41.6	52
S2	62.4	78
S4	128.8	161

- 4 RSB の適量を DIL1 チューブに添加します。

モード	RSB (μL)	最終量 (μL)
SP/S1	98	150
S2	147	225
S4	304	465

- 5 (オプション) 変性済み 2.5 nM PhiX の適量を DIL1 チューブに添加します。

モード	2.5 nM PhiX (μL)	最終量 (μL)
SP/S1	0.6	150.6
S2	0.9	225.9
S4	1.9	466.9

- 6 DIL1 チューブをボルテックスして混合します。
- 7 DIL1 チューブを短時間遠心します。
- 8 NovaSeq 6000 Reagent Kit に付属しているライブラリーチューブに、DIL1 の全量に移します。
- 9 すぐに、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』(文書番号: 1000000019358) の「Standard ワークフロー」の章の「SBS カートリッジおよびクラスターカートリッジの準備」に進みます。ライブラリーチューブを含む試薬カートリッジは、30 分以内に装置にローディングする必要があります。



注意

TSO500 HT ライブラリーのシーケンスの場合は、10 インデックスサイクルを使用してください。

DNA ライブラリーのための希釈

1 チューブをボルテックスして、短時間遠心します。

- ▶ PDL (DNA ライブラリーが 40 以下)
- ▶ TPD (DNA ライブラリーが 41 以上)

2 PDL または TPD の適量を DIL1 チューブに添加します。

モード	PDL または TPD (μL)
SP/S1	52
S2	78
S4	161

3 RSB の適量を DIL1 チューブに添加します。

モード	RSB (μL)	最終量 (μL)
SP/S1	98	150
S2	147	225
S4	304	465

4 (オプション) 変性済み 2.5 nM PhiX の適量を DIL1 チューブに添加します。

モード	2.5 nM PhiX (μL)	最終量 (μL)
SP/S1	0.6	150.6
S2	0.9	225.9
S4	1.9	466.9

5 DIL1 チューブをボルテックスして混合します。

6 DIL1 チューブを短時間遠心します。

7 NovaSeq 6000 Reagent Kit に付属しているライブラリーチューブに、DIL1 の全量に移します。

8 すぐに、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』(文書番号:1000000019358) の「Standard ワークフロー」の章の「SBS カートリッジおよびクラスターカートリッジの準備」に進みます。ライブラリーチューブを含む試薬カートリッジは、**30 分以内**に装置にローディングする必要があります。

注意

TSO500 HT ライブラリーのシーケンスの場合は、10 インデックスサイクルを使用してください。

プロトコール F : TruSight Oncology 500 HT ライブラリーの変性および希釈方法 (Xp ローディング)

TruSight Oncology 500 HT ライブラリーのための NovaSeq Xp ワークフローは、NovaSeq 6000 システムへのローディングを目的としたライブラリーの変性と希釈に使用されます。アドレス可能なレーンのローディングについては、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』(文書番号:1000000019358) の「NovaSeq Xp ワークフロー」の章を参照してください。TruSight Oncology 500 HT ワークフローを使用して調製したライブラリーは、サンプルプーリングに適した開始濃度にノーマライズがされています。

Xp ローディングを使用して TSO500 HT ライブラリーを SP、S1、S2、または S4 モードでシーケンスする場合は、プロトコール F を使用してください。SP フローセルの時、レーンあたり最大 8 サンプル、S1 フローセルの時、レーンあたり最大 16 サンプル、S2 フローセルの時、レーンあたり最大 36 サンプル、S4 フローセルの時、レーンあたり最大 48 サンプルをシーケンスできます。

ブローセルあたり、プールあたりでサポートされるサンプル数の詳細については、イルミナのウェブサイトにある TruSight Oncology 500 HT のサポートページを参照してください。

Standard ローディングの場合は、18 ページの「[プロトコール E : TruSight Oncology 500 HT ライブラリーの変性および希釈方法 \(Standard ローディング\)](#)」に進みます。

PhiX コントロールの調製 (オプション)

事前準備

- 1 RSB を 2°C ~ 8°C または -25°C ~ -15°C の保管場所から取り出し、室温に戻します。
- 2 10 nM PhiX のチューブを融解します (10 µL / チューブ)。
- 3 マイクロチューブに dHP3 (diluted HP3) と記載します。
- 4 マイクロチューブに dTris (diluted Tris-HCl) と記載します。
- 5 マイクロチューブに dPhiX (diluted PhiX) と記載します。

NaOH の希釈 (用事調製)

- 1 HP3 をボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 2 dHP3 チューブに以下の容量を混ぜ合わせます。
 - ▶ RNase/DNase フリー水 (32.5 µL)
 - ▶ HP3 (7.5 µL)
- 3 dHP3 をボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

Tris-HCl の希釈 (用事調製)

- 1 dTris チューブに以下の容量を混ぜ合わせます。
 - ▶ RNase/DNase フリー水 (25.0 µL)
 - ▶ 1 M Tris-HCl, pH 8.0 (15.0 µL)
- 2 dTris をボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

PhiX の希釈

- 1 RSB をボルテックスして混合します。
- 2 PhiX コントロールをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 3 dPhiX チューブに以下の容量を混ぜ合わせます。
 - ▶ RSB (2.0 µL)
 - ▶ PhiX コントロール (6.0 µL)
- 4 dPhiX チューブをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 5 **(オプション)** dPhiX は -25°C ~ -15°C で最長 3 カ月間保存できます。

PhiX の変性

- 1 dPhiX チューブに dHP3 を 8 µL 添加します。
- 2 dHP3 チューブは廃棄します。
- 3 dPhiX チューブをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

- 4 室温で5分間インキュベートします。
- 5 ただちに dPhiX チューブに dTris を 8 μ L 添加し、反応を中和します。
- 6 dTris チューブは廃棄します。
- 7 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 8 dPhiX チューブに RSB を 216 μ L 添加します。
- 9 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
PhiX の最終濃度は 0.25 nM です。
- 10 (オプション) 変性済みの 0.25 nM PhiX を -25°C ~ -15°C で保管します (最長 2 週間)。

ノーマライズ済みライブラリーのプール

事前準備

フローセルあたり、プールあたりでサポートされるサンプル数の詳細については、イルミナのウェブサイトにある TruSight Oncology 500 HT のサポートページを参照してください。

- 1 ノーマライズ済みライブラリー (NL) プレートが保管されていた場合は、室温に融解した後で、プレートを $280 \times g$ で 1 分間遠心します。
- 2 ヒートブロックを 96°C に予熱します。
- 3 アイスバケツを準備します。

手順

- 1 マルチチャンネルピペットを 30 μ L に設定した後、NL プレートのライブラリーを 5 回静かにピペティングして混合します。
 - ▶ 各ライブラリーに新しいチップを使用します。
プーリング前にライブラリーを十分に混合しないと、ライブラリーのシーケンス性能が損なわれます。
- 2 次のいずれかのオプションを選択して、ノーマライズ済みライブラリーをプールします。
 - ▶ RNA サンプルと DNA サンプルに由来するライブラリーを同時にシーケンスするには、[25 ページの「RNA と DNA のプール」](#)を参照してください。
 - ▶ DNA サンプルに由来するライブラリーのみをシーケンスするには、[26 ページの「DNA のみのプール」](#)を参照してください。



注意

手順では、命名規則の表をチューブへの記載のガイドとして使用します。移送先のチューブに、対応するフローセルレーンの正しい記載があることを確認してください。

RNA と DNA のプール

- 1 1.5 mL のスクリューキャップタイプのマイクロチューブに PRL とフローセルレーン番号を記載します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。[表 10](#) をガイドとして使用します。
 - ▶ 41 以上の RNA (cDNA) ライブラリーをプーリングする場合は、追加の 1.5 mL のスクリューキャップタイプのマイクロチューブに TPRL とフローセルレーン番号を記載します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。

表 10 RNA チューブの命名規則

フローセル	レーン 1	レーン 2	レーン 3	レーン 4
SP/S1	PRL_L1	PRL_L2	該当なし	該当なし
S2	PRL_L1	PRL_L2	該当なし	該当なし
S4	PRL_L1	PRL_L2	PRL_L3	PRL_L4

- 2 1.5 mL のスクリーキャップタイプのマイクロチューブに PDL とフローセルレーン番号を記載します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。表 11 をガイドとして使用します。
 - ▶ 41 以上の DNA ライブラリーをプーリングする場合は、追加の 1.5 mL のスクリーキャップタイプのマイクロチューブに TPDL とフローセルレーン番号を記載します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。

表 11 DNA チューブの命名規則

フローセル	レーン 1	レーン 2	レーン 3	レーン 4
SP/S1	PDL_L1	PDL_L2	該当なし	該当なし
S2	PDL_L1	PDL_L2	該当なし	該当なし
S4	PDL_L1	PDL_L2	PDL_L3	PDL_L4

- 3 ノーマライズ済みの各 RNA ライブラリー 5 μ L を NL プレートから PRL チューブに移します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。
- 4 ノーマライズ済みの各 DNA ライブラリー 5 μ L を NL プレートから PDL チューブに移します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。
- 5 各チューブをボルテックスして混合します。
- 6 各チューブを短時間遠心します。
- 7 PRL チューブに 41 以上の RNA ライブラリーが含まれている場合は、200 μ L を PRL チューブから TPRL チューブに移した後、PRL チューブを廃棄します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。
- 8 PDL チューブに 41 以上の DNA ライブラリーが含まれている場合は、200 μ L を PDL チューブから TPDL チューブに移した後、PDL チューブを廃棄します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。
- 9 26 ページの「ノーマライズ済みライブラリーの変性」に進みます。

DNA のみのプール

- 1 1.5 mL のスクリーキャップタイプのマイクロチューブに PDL とフローセルレーン番号を記載します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。表 12 をガイドとして使用します。

表 12 DNA チューブの命名規則

フローセル	レーン 1	レーン 2	レーン 3	レーン 4
SP/S1	PDL_L1	PDL_L2	該当なし	該当なし
S2	PDL_L1	PDL_L2	該当なし	該当なし
S4	PDL_L1	PDL_L2	PDL_L3	PDL_L4

- ▶ 41 以上の DNA ライブラリーをプーリングする場合は、追加の 1.5 mL のスクリーキャップタイプのマイクロチューブに TPDL (Transferred Pooled DNA Libraries) とフローセルレーン番号を記載します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。
- 2 ノーマライズ済みの各 DNA ライブラリー 5 μ L を NL プレートから PDL チューブに移します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。
 - 3 各チューブをボルテックスして混合します。
 - 4 各チューブを短時間遠心します。
 - 5 PDL チューブに 41 以上の DNA ライブラリーが含まれている場合は、200 μ L を PDL チューブから TPDL チューブに移した後、PDL チューブを廃棄します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。

ノーマライズ済みライブラリーの変性

- 1 以下のチューブをそれぞれ短時間ボルテックスして遠心します。

- ▶ PRL (RNA ライブラリーが 40 以下) または TPRL (RNA ライブラリーが 41 以上)
 - ▶ PDL (DNA ライブラリーが 40 以下) または TPDL (DNA ライブラリーが 41 以上)
- 2 ヒートブロックを使用して 96°C で 2 分間インキュベートします。
 - 3 すぐに氷上に 5 分間置きます。
 - 4 各チューブをボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
 - 5 チューブを氷上に置きます。

安全なストップポイント

ここで中断する場合は、変性済みライブラリーを -25°C ~ -15°C で保管します (最長 30 日間)。凍結したライブラリープールを使用するには、チューブを融解し、26 ページの「ノーマライズ済みライブラリーの変性」を再度行ってから、次の手順に進んでください。

ライブラリーの希釈とオプションの PhiX コントロールの添加

RSB の準備

- 1 RSB を 2°C ~ 8°C または -25°C ~ -15°C の保管場所から取り出し、室温に戻します。

変性済み 0.25 nM PhiX の調製

- 1 変性済み PhiX を保管していた場合は、変性済み 0.25 nM PhiX を -25°C ~ -15°C の保管場所から取り出し、室温に融解します。
- 2 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

ライブラリーの希釈

- 1 次のいずれかのオプションを選択して、ライブラリーを希釈します。
 - ▶ RNA サンプルと DNA サンプルに由来するライブラリーを同時にシーケンスするには、27 ページの「RNA ライブラリーと DNA ライブラリーの希釈」を参照してください。
 - ▶ DNA サンプルに由来するライブラリーのみをシーケンスするには、28 ページの「DNA ライブラリーのみ希釈」を参照してください。

RNA ライブラリーと DNA ライブラリーの希釈

- 1 新しい 1.5 mL のスクリュウキャップタイプのマイクロチューブにラベルを貼り、PRL ライブラリーと PDL ライブラリーを混合します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。表 13 をガイドとして使用します。

表 13 PRL と PDL を混合したチューブの命名規則

フローセル	レーン 1	レーン 2	レーン 3	レーン 4
SP/S1	PRL+PDL_L1	PRL+PDL_L2	該当なし	該当なし
S2	PRL+PDL_L1	PRL+PDL_L2	該当なし	該当なし
S4	PRL+PDL_L1	PRL+PDL_L2	PRL+PDL_L3	PRL+PDL_L4

- 2 以下のタイプのチューブをそれぞれ短時間ボルテックスして遠心します。
 - ▶ PRL (RNA ライブラリーが 40 以下) または TPRL (RNA ライブラリーが 41 以上)
 - ▶ PDL (DNA ライブラリーが 40 以下) または TPDL (DNA ライブラリーが 41 以上)
- 3 各 PRL または TPRL チューブの 5 µL を対応する PRL+PDL チューブに移します。
- 4 各 PDL または TPDL チューブの 20 µL を対応する PRL+PDL チューブに移します。
- 5 PRL+PDL チューブをボルテックスして混合します。

- PRL+PDL チューブを短時間遠心します。
- 新しい 1.5 mL のスクリュウキャップタイプのマイクロチューブにラベルを貼り、混合した PRL+PDL ライブラリーを希釈します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。表 14 をガイドとして使用します。

表 14 DIL 1 チューブの命名規則

フローセル	レーン 1	レーン 2	レーン 3	レーン 4
SP/S1	DIL1_L1	DIL1_L2	該当なし	該当なし
S2	DIL1_L1	DIL1_L2	該当なし	該当なし
S4	DIL1_L1	DIL1_L2	DIL1_L3	DIL1_L4

- 混合した PRL と PDL の適量を対応する各 DIL1 チューブに移します。

フローセル	PRL+PDL (μL)
SP/S1	4
S2	5
S4	6.8

- RSB の適量を対応する各 DIL1 チューブに添加します。

フローセル	RSB (μL)	最終量 (μL)
SP/S1	23	27
S2	28	33
S4	38.2	45

- (オプション) 変性済み 0.25 nM PhiX の適量を対応する各 DIL1 チューブに添加します。

フローセル	0.25 nM PhiX (μL)	最終量 (μL)
SP/S1	0.7	27.7
S2	0.8	33.8
S4	1.1	46.1

- DIL1 チューブをボルテックスして混合します。
- DIL1 チューブを短時間遠心します。
- ライブラリーを変性させて希釈し、オプションの PhiX コントロールを調製した後は、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』（文書番号：1000000019358）の「Xp ワークフロー」の章の「フローセルおよびドックの準備」に進みます。

**注意**

TSO500 HT ライブラリーのシーケンスの場合は、10 インデックスサイクルを使用してください。

DNA ライブラリーのための希釈

- 新しい 1.5 mL のスクリュウキャップタイプのマイクロチューブにラベルを貼り、PDL ライブラリーを希釈します。追加のレーンに対して、同じ処理を繰り返します。表 15 をガイドとして使用します。

表 15 チューブの命名規則

フローセル	レーン 1	レーン 2	レーン 3	レーン 4
SP/S1	DIL1_L1	DIL1_L2	該当なし	該当なし
S2	DIL1_L1	DIL1_L2	該当なし	該当なし
S4	DIL1_L1	DIL1_L2	DIL1_L3	DIL1_L4

- 2 PDL チューブまたは TPDL チューブを短時間ボルテックスして遠心します。
- 3 PDL または TPDL の適量を対応する各 DIL1 チューブに移します。

フローセル	PDL または TPDL (μL)
SP/S1	4
S2	5
S4	6.8

- 4 RSB の適量を対応する各 DIL1 チューブに添加します。

フローセル	RSB (μL)	最終量 (μL)
SP/S1	23	27
S2	28	33
S4	38.2	45

- 5 (オプション) 変性済み 0.25 nM PhiX の適量を対応する各 DIL1 チューブに添加します。

フローセル	0.25 nM PhiX (μL)	最終量 (μL)
SP/S1	0.7	27.7
S2	0.8	33.8
S4	1.1	46.1

- 6 DIL1 チューブをボルテックスして混合します。
- 7 DIL1 チューブを短時間遠心します。
- 8 ライブラリーを変性させて希釈し、オプションの PhiX コントロールを調製した後は、『NovaSeq 6000 Sequencing System Guide』（文書番号：1000000019358）の「Xp ワークフロー」の章の「フローセルおよびドックの準備」に進みます。



注意

TSO500 HT ライブラリーのシーケンスの場合は、10 インデックスサイクルを使用してください。

改訂履歴

文書	日付	変更内容
文書番号： 1000000106351 v03	2020年11月	TruSight Oncology 500 High Throughput ライブラリーをシーケンスする際のインデックスサイクルについての情報を追加。
文書番号： 1000000106351 v02	2020年7月	NovaSeq 6000 Reagent Kit v1.5 をサポートする情報を追加。
文書番号： 1000000106351 v01	2020年3月	TruSight Oncology 500 HT の Standard および Xp ローディング方法にプロトコール E および F を追加。
文書番号： 1000000106351 v00	2020年1月	初版リリース。

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。

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

イルミナカスタマーサポート電話番号

地域	フリーダイヤル	リージョナル
アイルランド	+353 1800936608	+353 016950506
イタリア	+39 800985513	+39 236003759
英国	+44 8000126019	+44 2073057197
オーストラリア	+1.800.775.688	
オーストリア	+43 800006249	+43 19286540
オランダ	+31 8000222493	+31 207132960
韓国	+82 80 234 5300	
シンガポール	+1.800.579.2745	
スイス	+41 565800000	+41 800200442
スウェーデン	+46 850619671	+46 200883979
スペイン	+34 911899417	+34 800300143
台湾 (中国)	00806651752	
中国	400.066.5835	
デンマーク	+45 80820183	+45 89871156
ドイツ	+49 8001014940	+49 8938035677
日本	0800.111.5011	
ニュージーランド	0800.451.650	
ノルウェー	+47 800 16836	+47 21939693
フィンランド	+358 800918363	+358 974790110
フランス	+33 805102193	+33 170770446
ベルギー	+32 80077160	+32 34002973
北米	+1.800.809.4566	
香港 (中国)	800960230	
その他の国	+44.1799.534000	

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

製品関連文書: jp.support.illumina.com からダウンロードできます。



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

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。

© 2020 Illumina, Inc. All rights reserved.

illumina[®]