

NextSeq 500 and NextSeq 550 Sequencing Systems

Denature and Dilute Libraries Guide

概要	3
消耗品および機器	4
プロトコール A：標準的なノーマライゼーション法	4
プロトコール B：ビーズベースのノーマライゼーション	6
プロトコール C：AmpliSeq for Illumina パネルのノーマライゼーション法	7
プロトコール D：AmpliSeq Library Equalizer for Illumina のノーマライゼーション法	9
プロトコール E：TruSight Tumor 170 ライブラリーの変性および希釈方法	10
プロトコール F：TruSight Oncology 500 ライブラリーの変性および希釈方法	12
プロトコール A～D を使用する場合の PhiX コントロールの変性と希釈	15
プロトコール E を使用する場合の PhiX コントロールの変性と希釈	17
プロトコール F を使用する場合の PhiX コントロールの変性と希釈	18
次の手順	20
トラブルシューティングラン用の PhiX の調製	20
改訂履歴	21
テクニカルサポート	23



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

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

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

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

© 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® NextSeq™ 500 または 550 システムでのシーケンス用に調製された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。

次の目的で PhiX ライブラリーを調製するための手順が含まれています。

- ▶ **コントロール用**：シーケンスコントロールとして使用するために、PhiX ライブラリーを調製して、調製済みライブラリーと混合する場合です。PhiX コントロールプロトコルの手順については、[15 ページ](#)から説明します。
- ▶ **トラブルシューティング用**：トラブルシューティングを目的として、PhiX のみのシーケンスランのために PhiX ライブラリーを調製する場合です。[20 ページの「トラブルシューティングラン用の PhiX の調製」](#)を参照してください。

ローディング量と濃度

この手順では、ライブラリーを変性および希釈することにより、High Output Kit の場合は 1.8 pM、Mid Output Kit の場合は 1.5 pM の推奨濃度で 1.3 mL の最終ローディング量が得られます。実際には、ローディング濃度はライブラリー調製方法と定量方法によって異なる場合があります。

プロトコルの種類

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ルに従ってください。

- ▶ **標準的なノーマライゼーション**：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たライブラリーの場合。これらのライブラリーについては、[プロトコル A](#) に従ってください。[4 ページの「プロトコル A：標準的なノーマライゼーション法」](#)を参照してください。
- ▶ **ビーズベースのノーマライゼーション**：ライブラリー調製の文書に記載されているビーズベースのノーマライゼーションをサポートする方法に示された、ビーズベースの手順を用いてノーマライズされたライブラリーの場合。これらのライブラリーについては、[プロトコル B](#) に従ってください。[6 ページの「プロトコル B：ビーズベースのノーマライゼーション」](#)を参照してください。
 - ▶ TruSight™ Tumor 170 ライブラリーの場合、[10 ページの「プロトコル E：TruSight Tumor 170 ライブラリーの変性および希釈方法」](#)に従ってください。
 - ▶ 互換性のある TruSight Oncology 500 ライブラリーの場合、[12 ページの「プロトコル F：TruSight Oncology 500 ライブラリーの変性および希釈方法」](#)に従ってください。
- ▶ **AmpliSeq™ for Illumina のノーマライゼーション**：標準的な AmpliSeq for Illumina ワークフローを用いて調製されたすべてのライブラリーについては、[プロトコル C](#) に従ってください。[7 ページの「プロトコル C：AmpliSeq for Illumina パネルのノーマライゼーション法」](#)を参照してください。
- ▶ **AmpliSeq Library Equalizer™ for Illumina のノーマライゼーション**：AmpliSeq Library Equalizer for Illumina ワークフローを用いて調製されたすべてのライブラリーについては、[プロトコル D](#) に従ってください。[9 ページの「プロトコル D：AmpliSeq Library Equalizer for Illumina のノーマライゼーション法」](#)を参照してください。

ベストプラクティス

- ▶ 少ない液量のピペティングにより生じるエラーで最終 NaOH 濃度に影響を与えないよう、新しく希釈した NaOH を 1 mL 以上調製します。
- ▶ 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、試薬の融解を始めます。手順については、使用する装置のシステムガイド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、PhiX コントロールの調製に必要です。

消耗品	サプライヤー
HT1 (ハイブリダイゼーションバッファー)	NextSeq 500/550 Kit の構成成分
(プロトコール C) Low TE	イルミナ、AmpliSeq Library PLUS キットと一緒に提供

ユーザーが用意する消耗品	サプライヤー
1 N NaOH、分子生物学用グレード	一般的なラボ用品サプライヤー
(プロトコール A ~ D) 200 mM Tris-HCl, pH 7.0	一般的なラボ用品サプライヤー

以下の追加の消耗品は、PhiX コントロールの調製に必要です。

消耗品	キット名
PhiX、10 nM RSB (Resuspension Buffer)	イルミナ、カタログ番号：FC-110-3002
(プロトコール E および F) HP3 (2 N NaOH)	イルミナ、ライブラリー調製キット内容物と一緒に提供

機器

以下の機器は、ビーズベース法を利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
Hybex Microsample Incubator	SciGene、カタログ番号：1057-30-O (115 V) または同等品 SciGene、カタログ番号：1057-30-2 (230 V) または同等品
1.5 mL マイクロチューブ用のヒートブロック	SciGene、カタログ番号：1057-34-0 または同等品

プロトコール A：標準的なノーマライゼーション法

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。

注意

通常、HT1 で希釈した後の最終溶液に含まれる NaOH は、1 mM 以下であることが重要です。ただし、200 mM Tris-HCl を添加すると、最終溶液内の NaOH が完全に加水分解されます。その結果、HT1 で希釈した後の最終的な NaOH 濃度が 1 mM を越えても、テンプレートのハイブリダイゼーションは影響を受けません。

試薬の調製

NaOH の希釈（用事調製）

- 1 マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ ラボラトリーグレード水（800 μ L）
 - ▶ ストック 1.0 N NaOH（200 μ L）
 1 mL の 0.2 N NaOH が得られます。
- 2 チューブを数回転倒混和します。



注意

新しい希釈液は **12 時間**以内に使用してください。

HT1 の準備

- 1 HT1 を -25 $^{\circ}$ C ~ -15 $^{\circ}$ C の保管場所から取り出し、室温で融解します。
- 2 変性済みライブラリーを希釈する準備ができるまで、2 $^{\circ}$ C ~ 8 $^{\circ}$ C で保管します。

RSB の準備



注意

RSB の代わりに、10 mM Tris-HCl, pH 8.5 with 0.1% Tween 20 を使用できます。

- 1 RSB のチューブを -25 $^{\circ}$ C ~ -15 $^{\circ}$ C の保管場所から取り出し、室温で融解します。
- 2 ライブラリーを希釈する準備ができるまで、融解した RSB を 2 $^{\circ}$ C ~ 8 $^{\circ}$ C で保管します。

ライブラリーの変性

- 1 マイクロチューブに以下の分量のライブラリーと新しく希釈した 0.2 N NaOH を混合します。

開始ライブラリー濃度	ライブラリー	0.2 N NaOH
4 nM	5 μ L	5 μ L
2 nM	10 μ L	10 μ L
1 nM	20 μ L	20 μ L
0.5 nM	40 μ L	40 μ L

- 2 軽くボルテックスして、280 \times g で 1 分間遠心します。
- 3 室温で 5 分間インキュベートします。
- 4 以下の体積の 200 mM Tris-HCl, pH 7 を添加します。

開始ライブラリー濃度	200 mM Tris-HCl, pH 7
4 nM	5 μ L
2 nM	10 μ L
1 nM	20 μ L
0.5 nM	40 μ L

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

20 pM への変性済みライブラリーの希釈

- 1 変性済みライブラリーのチューブに、以下の体積の事前冷却済み HT1 を添加します。

開始ライブラリー濃度	事前冷却済み HT1
4 nM	985 μ L
2 nM	970 μ L
1 nM	940 μ L
0.5 nM	880 μ L

20 pM 変性済みライブラリーが得られます。

- 2 軽くボルテックスして、280 \times g で 1 分間遠心します。
- 3 最終希釈に進む準備ができるまで、20 pM ライブラリーを氷上に置きます。

ライブラリーをローディング濃度に希釈

High Output Kit

- 1 次のように、変性済み 20 pM ライブラリー溶液を 1.8 pM に希釈します。
 - ▶ 変性済みライブラリー溶液 (117 μ L)
 - ▶ 事前冷却済み HT1 (1183 μ L)
 総体積は、1.8 pM で 1.3 mL となります。
- 2 転倒混和し、パルス遠心します。
- 3 PhiX コントロールを添加する場合は、15 ページの「プロトコール A ~ D を使用する場合の PhiX コントロールの変性と希釈」に進みます。そうでない場合は、20 ページの「次の手順」を参照してください。

Mid Output Kit

- 1 次のように、変性済み 20 pM ライブラリー溶液を 1.5 pM に希釈します。
 - ▶ 変性済みライブラリー溶液 (97 μ L)
 - ▶ 事前冷却済み HT1 (1203 μ L)
 総体積は、1.5 pM で 1.3 mL となります。
- 2 転倒混和し、パルス遠心します。
- 3 PhiX コントロールを添加する場合は、15 ページの「プロトコール A ~ D を使用する場合の PhiX コントロールの変性と希釈」に進みます。そうでない場合は、20 ページの「次の手順」を参照してください。

プロトコール B：ビーズベースのノーマライゼーション

ライブラリー固有のノーマライゼーションプロトコールがなく、また、ライブラリー調製の文書に記載されているビーズベースのノーマライゼーションをサポートする方法に示された、ビーズベースの手順を用いてノーマライズされ、プーリングされているライブラリーを変性および希釈するには、プロトコール B を使用します。ビーズベースのノーマライゼーション手順は、場合によって異なる可能性があります。ライブラリーのタイプおよび過去のシーケンスにおける経験に応じて、2 ~ 5 μ L のライブラリーで最適な結果が得られます。

HT1 の準備

- 1 HT1 を -25 $^{\circ}$ C ~ -15 $^{\circ}$ C の保管場所から取り出し、室温で融解します。
- 2 変性済みライブラリーを希釈する準備ができるまで、2 $^{\circ}$ C ~ 8 $^{\circ}$ C で保管します。

インキュベーターの準備

- 1 インキュベーターを 98 °C に予熱します。

ライブラリーをローディング濃度に希釈

- 1 マイクロチューブに、以下の体積のプーリング済みライブラリーと事前冷却済みハイブリダイゼーションバッファーを混ぜ合わせます。

プーリング済みライブラリー	事前冷却済みハイブリダイゼーションバッファー
2 µL	998 µL
3 µL	997 µL
4 µL	996 µL
5 µL	995 µL

総体積は 1 mL となります。

- 2 軽くボルテックスして、280 × g で 1 分間遠心します。
- 3 750 µL の希釈済みライブラリーを新しいマイクロチューブに移します。
- 4 750 µL の事前冷却済みハイブリダイゼーションバッファーを添加します。
- 5 軽くボルテックスして、280 × g で 1 分間遠心します。

希釈済みライブラリーの変性

- 1 チューブを予熱済みのインキュベーターに 2 分間置きます。
- 2 すぐに氷上で冷却します。
- 3 氷上に 5 分間置きます。
- 4 PhiX コントロールを添加する場合は、15 ページの「プロトコール A ~ D を使用する場合の PhiX コントロールの変性と希釈」に進みます。そうでない場合は、20 ページの「次の手順」を参照してください。

プロトコール C : AmpliSeq for Illumina パネルのノーマライゼーション法

標準的な AmpliSeq for Illumina ワークフローを用いて調製されたライブラリーを変性および希釈する場合は、プロトコール C を使用します。最終的なローディング濃度と体積は、ライブラリー調製方法と定量方法によって異なります。シーケンスランごとにサポートされるライブラリー数の詳細については、[イルミナのサポートウェブサイト](#)にアクセスし、使用するパネルの AmpliSeq for Illumina サポートページを参照してください。

試薬の調製

NaOH の希釈 (用事調製)

- 1 マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ ラボラトリーグレード水 (800 µL)
 - ▶ ストック 1.0 N NaOH (200 µL)
 1 mL の 0.2 N NaOH が得られます。
- 2 チューブを数回転倒混和します。

注意

新しい希釈液は **12 時間**以内に使用してください。

HT1 の準備

- 1 HT1 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 変性済みライブラリーを希釈する準備ができるまで、2 °C ~ 8 °C で保管します。

Low TE の準備

- 1 凍結している場合、Low TE 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 ライブラリーを希釈する準備ができるまで、融解した Low TE を室温で保管します。

ライブラリーの希釈

- 1 新しい 96 ウェル LoBind PCR プレートで、Low TE を使用して各ライブラリーを 2 nM に希釈します。

ライブラリーのプーリング

- 1 各 2 nM ライブラリーを、同じ体積だけプレートから 1.5 mL LoBind チューブに移します。
DNA ライブラリーおよび RNA ライブラリーがある場合には、それぞれに別々のチューブを必ず使用してください。
- 2 各チューブをボルテックスして混合します。
- 3 各チューブを短時間遠心します。
- 4 DNA ライブラリーと RNA ライブラリーを 1 つのシーケンスランにグループ化する場合は、DNA ライブラリープールと RNA ライブラリープールを次の比率で混合します。

パネル	DNA と RNA の比率
AmpliSeq for Illumina Myeloid Panel	8:1
AmpliSeq for Illumina Childhood Cancer Panel	5:1
AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3	25:1

- 5 プールを混合してから、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。

ライブラリーの変性

- 1 マイクロチューブに以下の分量のライブラリーと新しく希釈した 0.2 N NaOH を混合します。

試薬	体積 (μL)
プーリング済みライブラリー	10
0.2 N NaOH	10

- 2 軽くボルテックスした後、短時間遠心します。
- 3 室温で 5 分間インキュベートします。
- 4 2 nM プーリング済みライブラリーを含むチューブに、10 μL の 200 mM Tris-HCl, pH 7.0 を添加します。
- 5 軽くボルテックスした後、短時間遠心します。

20 pM への変性済みライブラリーの希釈

- 1 2 nM 変性済みライブラリープールのチューブに、970 μ L の事前冷却済み HT1 を添加します。
20 pM 変性済みライブラリーが得られます。
- 2 軽くボルテックスした後、短時間遠心します。
- 3 最終希釈に進む準備ができるまで、20 pM ライブラリーを氷上に置きます。

最終ローディング濃度へのライブラリーの希釈

- 1 事前冷却済み HT1 を使用して、変性済み 20 pM ライブラリー溶液を最終体積 1.3 mL で 1.1 ~ 1.9 pM に希釈します。
- 2 転倒混和した後、短時間遠心します。

安全なストップポイント

中断する場合は、プレートを密閉し、-25 $^{\circ}$ C ~ -15 $^{\circ}$ C で保管します。

プロトコール D : AmpliSeq Library Equalizer for Illumina のノーマライゼーション法

AmpliSeq Library Equalizer for Illumina ワークフローを用いて調製されたライブラリーを変性および希釈する場合は、プロトコール D を使用します。AmpliSeq Library Equalizer for Illumina 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されています。シーケンスランごとにサポートされるライブラリー数の詳細については、[イルミナのサポートウェブサイト](#)にアクセスし、使用するパネルの AmpliSeq for Illumina サポートページを参照してください。

試薬の調製

NaOH の希釈 (用事調製)

- 1 マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ ラボラトリーグレード水 (800 μ L)
 - ▶ ストック 1.0 N NaOH (200 μ L)1 mL の 0.2 N NaOH が得られます。
- 2 チューブを数回転倒混和します。

注意

新しい希釈液は **12 時間**以内に使用してください。

HT1 の準備

- 1 HT1 を -25 $^{\circ}$ C ~ -15 $^{\circ}$ C の保管場所から取り出し、室温で融解します。
- 2 変性済みライブラリーを希釈する準備ができるまで、2 $^{\circ}$ C ~ 8 $^{\circ}$ C で保管します。

ライブラリーのプーリング

- 1 各ライブラリーを同じ体積だけプレートから 1.5 mL LoBind チューブに移します。
DNA ライブラリーおよび RNA ライブラリーがある場合には、それぞれに別々のチューブを必ず使用してください。
- 2 各チューブをボルテックスして混合します。

- 各チューブを短時間遠心します。
- DNA ライブラリーと RNA ライブラリーを 1 つのシーケンスランにグループ化する場合は、DNA ライブラリープールと RNA ライブラリープールを次の比率で混合します。

パネル	DNA と RNA の比率
AmpliSeq for Illumina Myeloid Panel	8:1
AmpliSeq for Illumina Childhood Cancer Panel	5:1
AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3	25:1

- プールを混合してから、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。

ライブラリーの変性

- マイクロチューブに以下の分量のライブラリーと新しく希釈した 0.2 N NaOH を混合します。

試薬	体積 (μL)
ブーリング済みライブラリー	10
0.2 N NaOH	10

- 軽くボルテックスした後、短時間遠心します。
- 室温で 5 分間インキュベートします。
- ブーリング済みライブラリーを含むチューブに、10 μL の 200 mM Tris-HCl, pH 7.0 を添加します。
- 軽くボルテックスした後、短時間遠心します。

変性済みライブラリーの希釈

- 変性済みライブラリープールのチューブに、970 μL の事前冷却済み HT1 を添加します。
- 軽くボルテックスした後、短時間遠心します。
- 最終希釈に進む準備ができるまで、ライブラリーを氷上に置きます。

最終ローディング濃度へのライブラリーの希釈

- 以下の体積を混合して、変性済みライブラリー溶液を最終ローディング濃度に希釈します。
 - ▶ 変性済みライブラリー (95 μL)
 - ▶ HT1 (1205 μL)
- 転倒混和した後、短時間遠心します。

安全なストップポイント

中断する場合は、プレートを密閉し、-25 °C ~ -15 °C で保管します。

プロトコール E : TruSight Tumor 170 ライブラリーの変性および希釈方法

プロトコール E を使用して、TruSight Tumor 170 ライブラリーを変性および希釈します。

以下の手順に従って、カバレッジを最適化します。

- ▶ NextSeq High Output フローセルを使用して、ランあたり 16 個のライブラリー (DNA 8 個および RNA 8 個) をシーケンスし、ライブラリーごとに最大のカバレッジを達成します。
- ▶ DNA ライブラリーのみをシーケンスする場合、最大 10 個のライブラリーをシーケンスできます。

- ▶ RNA ライブラリーのみをシーケンスする場合、最大 16 個のライブラリーをシーケンスできます。
- ▶ これ以外の組み合わせの DNA ライブラリーと RNA ライブラリーをシーケンスする場合は、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。

HT1 の準備

- 1 HT1 を -25 °C ~ -15 °C の保管場所から取り出し、室温で融解します。ボルテックスして懸濁します。
- 2 変性済みライブラリーを希釈する準備ができるまで、2 °C ~ 8 °C で保管します。

ヒートブロックの準備

- 1 ヒートブロックを 96 °C に予熱します。

ライブラリーの変性

- 1 ヒートブロックを使用して 96 °C で各プーリング済みライブラリーチューブを 2 分間インキュベートします。
- 2 各チューブを 2 回転倒混和します。
- 3 軽く遠心して、氷上に 5 分間置きます。

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場合は、11 ページの「ライブラリーの変性」の手順を繰り返して、再変性、混合、および冷却してから、次の手順に進んでください。

ライブラリーの希釈

以下の希釈手順のいずれかを選択して、変性済みライブラリー溶液を生成します。DNA ライブラリーと RNA ライブラリーを同数ずつシーケンスする場合は、DNA と RNA を 4:1 の比率でプーリングします。異なる個数のライブラリー（DNA 7 個と RNA 3 個など）をシーケンスする場合は、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。

DNA ライブラリーと RNA ライブラリーの同時シーケンス

- 1 20 µL の変性済み DNA ライブラリーを新しいスクリーキャップタイプのマイクロチューブに移します。
- 2 5 µL の変性済み RNA ライブラリーをチューブに添加します。
- 3 475 µL の HT1 バッファーをチューブに添加し、1:20 に希釈します。
- 4 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

DNA ライブラリーのシーケンス

- 1 10 µL の変性済み DNA ライブラリーを新しいスクリーキャップタイプのマイクロチューブに移します。
- 2 190 µL の HT1 バッファーをチューブに添加し、1:20 に希釈します。
- 3 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

RNA ライブラリーのシーケンス

- 1 10 µL の変性済み RNA ライブラリーを新しいスクリーキャップタイプのマイクロチューブに移します。
- 2 190 µL の HT1 バッファーをチューブに添加し、1:20 に希釈します。
- 3 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

変性済みライブラリーの最終ローディング濃度への希釈

- 1 40 μ L の変性済みライブラリー溶液を新しいスナップキャップタイプのマイクロチューブに移します。
- 2 1360 μ L の HT1 バッファーをチューブに添加します。
- 3 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 4 PhiX コントロールを添加する場合は、17 ページの「プロトコール E を使用する場合の PhiX コントロールの変性と希釈」に進みます。そうでない場合は、20 ページの「次の手順」を参照してください。

プロトコール F : TruSight Oncology 500 ライブラリーの変性および希釈方法

本装置と互換性のある TruSight Oncology 500 ワークフローを用いて調製されたライブラリーをプーリング、変性、希釈する場合は、プロトコール F を使用します。当該の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されています。

RNA のみの TruSight Oncology 500 ライブラリーでは、シーケンス品質を確保するために PhiX コントロールが必要です。DNA のみの TruSight Oncology 500 ライブラリーや DNA ライブラリーと RNA ライブラリーが混在する場合は、PhiX コントロールはオプションです。

以下の手順に従って、カバレッジを最適化します。

- ▶ DNA ライブラリーのみをシーケンスする場合、最大 8 個のライブラリーをシーケンスします。
- ▶ DNA ライブラリーと RNA ライブラリーを同時にシーケンスする場合、最大で 8 個ずつの DNA ライブラリーと RNA ライブラリーをシーケンスします。
- ▶ RNA ライブラリーのみをシーケンスする場合、最大 16 個のライブラリーをシーケンスします。

次のいずれかのオプションを選択して、ライブラリーをプーリング、変性、希釈します。

- ▶ DNA ライブラリーのみをシーケンスする場合は、12 ページの「DNA ライブラリーの変性と希釈」を参照してください。
- ▶ DNA ライブラリーと RNA ライブラリーを同時にシーケンスする場合は、13 ページの「DNA ライブラリーと RNA ライブラリーの変性と希釈」を参照してください。
- ▶ RNA ライブラリーのみをシーケンスする場合は、14 ページの「RNA ライブラリーの変性と希釈」を参照してください。

DNA ライブラリーの変性と希釈

HT1 の準備

- 1 HT1 を -25 $^{\circ}$ C ~ -15 $^{\circ}$ C の保管場所から取り出し、室温で融解します。ボルテックスして懸濁します。
- 2 変性済みライブラリーを希釈する準備ができるまで、2 $^{\circ}$ C ~ 8 $^{\circ}$ C で保管します。

ヒートブロックの準備

- 1 ヒートブロックを 96 $^{\circ}$ C に予熱します。

ライブラリーのプーリング

- 1 DNA NL プレートに室温で融解します。ピペティングして混合し、遠心します。
- 2 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。
- 3 ノーマライズ済み各 DNA ライブラリー 10 μ L を NL プレートから PDL チューブに移します。

- 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。

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 PDL チューブを 2 回転倒混和します。
- 3 軽く遠心して、氷上に 5 分間置きます。

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場合は、13 ページの「ライブラリーの変性」の手順を繰り返して、再変性、混合、および冷却してから、次の手順に進んでください。

ライブラリーの希釈

- 1 10 µL の変性済み PDL チューブを新しいスクリュウキャップタイプのマイクロチューブに移します。
- 2 190 µL の HT1 バッファーをチューブに添加し、1:20 に希釈します。
- 3 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

変性済みライブラリーの最終ローディング濃度への希釈

- 1 40 µL の変性および希釈済みライブラリー溶液を新しい 2 mL のスクリュウキャップタイプのマイクロチューブに移します。
- 2 1660 µL の HT1 バッファーをチューブに添加します。
- 3 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 4 18 ページの「プロトコール F を使用する場合の PhiX コントロールの変性と希釈」に進みます。

DNA ライブラリーと RNA ライブラリーの変性と希釈

HT1 の準備

- 1 HT1 を -25 °C ~ -15 °C の保管場所から取り出し、室温で融解します。ボルテックスして懸濁します。
- 2 変性済みライブラリーを希釈する準備ができるまで、2 °C ~ 8 °C で保管します。

ヒートブロックの準備

- 1 ヒートブロックを 96 °C に予熱します。

ライブラリーのプーリング

- 1 DNA および RNA NL プレートの両方を室温に融解します。ピペティングして混合し、遠心します。
- 2 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。
- 3 ノーマライズ済み各 DNA ライブラリー 10 µL を NL プレートから PDL チューブに移します。
- 4 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 PRL (Pooled RNA Libraries) と記載します。
- 5 ノーマライズ済み各 RNA ライブラリー 10 µL を RNA NL プレートから PRL チューブに移します。
- 6 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。

ライブラリーの変性

- 1 ヒートブロックを使用して 96 °C で各プーリング済みライブラリーチューブを 2 分間インキュベートします。
- 2 各チューブを 2 回転倒混和します。
- 3 軽く遠心して、氷上に 5 分間置きます。

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場合は、14 ページの「ライブラリーの変性」の手順を繰り返して、再変性、混合、および冷却してから、次の手順に進んでください。

ライブラリーの希釈

- 1 20 µL の変性済み DNA ライブラリー (PDL) を新しいスクリュウキャップタイプのマイクロチューブに移します。
- 2 5 µL の変性済み RNA ライブラリー (PRL) をチューブに添加します。
- 3 475 µL の HT1 バッファーをチューブに添加し、1:20 に希釈します。
DNA ライブラリーと RNA ライブラリーを同数ずつシーケンスする場合は、DNA と RNA を 4:1 の比率でプーリングします。異なる個数のライブラリーをシーケンスする場合は、イルミナのテクニカルサポートにお問い合わせください。
- 4 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

変性済みライブラリーの最終ローディング濃度への希釈

- 1 40 µL の変性および希釈済みライブラリー溶液を新しい 2 mL のスクリュウキャップタイプのマイクロチューブに移します。
- 2 1660 µL の HT1 バッファーをチューブに添加します。
- 3 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 4 18 ページの「プロトコール F を使用する場合の PhiX コントロールの変性と希釈」に進みます。

RNA ライブラリーの変性と希釈

HT1 の準備

- 1 HT1 を -25 °C ~ -15 °C の保管場所から取り出し、室温で融解します。ボルテックスして懸濁します。
- 2 変性済みライブラリーを希釈する準備ができるまで、2 °C ~ 8 °C で保管します。

ヒートブロックの準備

- 1 ヒートブロックを 96 °C に予熱します。

ライブラリーのプーリング

- 1 RNA NL プレートに室温で融解します。ピペティングして混合し、遠心します。
- 2 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 PRL (Pooled RNA Libraries) と記載します。
- 3 ノーマライズ済み各 RNA ライブラリー 10 µL を NL プレートから PRL チューブに移します。
- 4 PRL チューブをボルテックスして混合します。
- 5 PRL チューブを短時間遠心します。

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 PRL チューブを 2 分間インキュベートします。
- 2 PRL チューブを 2 回転倒混和します。
- 3 軽く遠心して、氷上に 5 分間置きます。

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場合は、15 ページの「ライブラリーの変性」の手順を繰り返して、再変性、混合、および冷却してから、次の手順に進んでください。

ライブラリーの希釈

- 1 10 µL の変性済み PRL チューブを新しいスクリュウキャップタイプのマイクロチューブに移します。
- 2 190 µL の HT1 バッファーをチューブに添加し、1:20 に希釈します。
- 3 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

変性済みライブラリーの最終ローディング濃度への希釈

- 1 40 µL の変性および希釈済みライブラリー溶液を新しい 2 mL のスクリュウキャップタイプのマイクロチューブに移します。
- 2 1660 µL の HT1 バッファーをチューブに添加します。
- 3 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 4 18 ページの「プロトコール F を使用する場合は PhiX コントロールの変性と希釈」に進みます。

プロトコール A ~ D を使用する場合は PhiX コントロールの変性と希釈

以下の手順に従って、プロトコール A ~ D のシーケンスコントロールとして使用するために PhiX ライブラリーを変性および希釈します。

4 nM への PhiX の希釈

- 1 10 nM PhiX ストックのチューブを融解します（10 µL/チューブ）。
- 2 マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ 10 nM PhiX（10 µL）
 - ▶ RSB（15 µL）
 総体積 25 µL の 4 nM PhiX が得られます。
- 3 軽くボルテックスした後、パルス遠心します。

注意

(オプション) 4 nM PhiX を -25 °C ~ -15 °C で最長 3 か月保管できます。

PhiX の変性

- 1 マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ 4 nM PhiX (5 μ L)
 - ▶ 新しく希釈した 0.2 N NaOH (5 μ L)
- 2 軽くボルテックスした後、パルス遠心します。
- 3 室温で 5 分間インキュベートします。
- 4 5 μ L の 200 mM Tris-HCl, pH 7.0 を添加します。
- 5 軽くボルテックスして、280 \times g で 1 分間遠心します。

変性済み PhiX のローディング濃度への希釈

High Output Kit

- 1 変性済み PhiX のチューブに、985 μ L の事前冷却済み HT1 を添加します。
総体積は、20 pM で 1 mL となります。
- 2 次のように、変性済み 20 pM PhiX を 1.8 pM に希釈します。
 - ▶ 変性済み PhiX (117 μ L)
 - ▶ 事前冷却済み HT1 (1183 μ L)総体積は、1.8 pM で 1.3 mL となります。
- 3 転倒混和し、280 \times g で 1 分間遠心します。



注意

(オプション) 変性済みの 1.8 pM PhiX を -25 $^{\circ}$ C ~ -15 $^{\circ}$ C で最長 2 週間保管できます。2 週間経過すると、クラスター数が減少する傾向があります。

Mid Output Kit

- 1 変性済み PhiX のチューブに、985 μ L の事前冷却済み HT1 を添加します。
総体積は、20 pM で 1 mL となります。
- 2 次のように、変性済み 20 pM PhiX を 1.5 pM に希釈します。
 - ▶ 変性済み PhiX (97 μ L)
 - ▶ 事前冷却済み HT1 (1203 μ L)総体積は、1.5 pM で 1.3 mL となります。
- 3 転倒混和し、280 \times g で 1 分間遠心します。



注意

(オプション) 変性済みの 1.5 pM PhiX を -25 $^{\circ}$ C ~ -15 $^{\circ}$ C で最長 2 週間保管できます。2 週間経過すると、クラスター数が減少する傾向があります。

ライブラリーと PhiX コントロールの混合

ほとんどのライブラリーでは、シーケンスコントロールとして 1 % の低濃度 PhiX コントロール添加を使用します。

- 以下の体積の変性済み PhiX コントロールと変性済みライブラリーを混ぜ合わせます。

ライブラリーおよび濃度 (Mid Output Kit 用の 1.5 pM PhiX を使用)	体積
1.5 pM の変性および希釈済み PhiX コントロール	13 μ L
変性および希釈済みのライブラリー (プロトコール A、B、C、または D によるもの)	1287 μ L

ライブラリーおよび濃度 (Mid Output Kit 用の 20 pM PhiX を使用)	体積
20 pM の変性および希釈済み PhiX コントロール	1 μ L
変性および希釈済みのライブラリー (プロトコール A、B、C、または D によるもの)	1299 μ L

- 試薬カートリッジにロードする準備ができるまで、氷上に置いておきます。

注意

ライブラリーと PhiX の混合液には、0.5% ~ 2.0% の PhiX 添加がなされています。実際の PhiX の割合はライブラリープールのクオリティと量により異なります。

プロトコール E を使用する場合の PhiX コントロールの変性と希釈

以下の手順に従って、TruSight Tumor 170 ライブラリーのシーケンスコントロールとして使用するために PhiX ライブラリーを変性および希釈します。

試薬の調製

HP3 の準備

- HP3 を 2 $^{\circ}$ C ~ 8 $^{\circ}$ C の保管場所から取り出し、室温に戻します。

NaOH の希釈 (用事調製)

- マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ RNase/DNase フリー水 (950 μ L)
 - ▶ HP3 (50 μ L)
 1 mL の 0.1 N NaOH が得られます。
- チューブを数回転倒混和します。

警告

新しい希釈液は **1 時間**以内に使用してください。

PhiX コントロールの調製

2 nM への PhiX の希釈

- 10 nM PhiX ストックのチューブを融解します (10 μ L/チューブ)。

- 2 マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ 10 nM PhiX (2 μ L)
 - ▶ RSB (8 μ L)
 総体積 10 μ L の 2 nM PhiX が得られます。
- 3 上下に 5 回ピペティングして混合します。

PhiX の変性

- 1 マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ 2 nM PhiX (10 μ L)
 - ▶ 新しく希釈した 0.1 N NaOH (10 μ L)
- 2 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 3 室温で 5 分間インキュベートします。

変性済み PhiX のローディング濃度への希釈

- 1 変性済み PhiX のチューブに、980 μ L の事前冷却済み HT1 を添加します。
総体積は、20 pM で 1 mL となります。
- 2 転倒混和した後、短時間遠心します。



注意

(オプション) 変性済みの 20 pM PhiX を $-25\text{ }^{\circ}\text{C} \sim -15\text{ }^{\circ}\text{C}$ で、使い捨ての 50 μ L アリコートとして最長 3 週間保管できます。

ライブラリーと PhiX コントロールの混合

- 1 以下の体積の変性済み PhiX コントロールと変性済みライブラリーを混ぜ合わせます。
 - ▶ 変性済み 20 pM PhiX コントロール (2.5 μ L)
 - ▶ 変性済みライブラリー (1300 μ L)
- 2 ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 3 試薬カートリッジにロードする準備ができるまで、氷上に置いておきます。

プロトコール F を使用する場合の PhiX コントロールの変性と希釈

以下の手順に従って、プロトコール F のシーケンスコントロールとして使用するために PhiX ライブラリーを変性および希釈します。

試薬の調製

HP3 の準備

- 1 HP3 を $2\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ の保管場所から取り出し、室温に戻します。

NaOH の希釈 (用事調製)

- 1 マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ RNase/DNase フリー水 (190 μ L)
 - ▶ HP3 (10 μ L)
 200 μ L の 0.1 N NaOH が得られます。

- チューブを数回転倒混和します。

**警告**

新しい希釈液は **1 時間**以内に使用してください。

PhiX コントロールの調製

2 nM への PhiX の希釈

- 10 nM PhiX ストックのチューブを融解します (10 μ L/チューブ)。
- マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ 10 nM PhiX (2 μ L)
 - ▶ RSB (8 μ L)
 総体積 10 μ L の 2 nM PhiX が得られます。
- 上下に 5 回ピペティングして混合します。

PhiX の変性

- マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ 2 nM PhiX (10 μ L)
 - ▶ 新しく希釈した 0.1 N NaOH (10 μ L)
- ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 室温で 5 分間インキュベートします。

変性済み PhiX のローディング濃度への希釈

- 変性済み PhiX のチューブに、980 μ L の事前冷却済み HT1 を添加します。
総体積は、20 pM で 1 mL となります。
- 転倒混和した後、短時間遠心します。

**注意**

(オプション) 変性済みの 20 pM PhiX を -25 $^{\circ}$ C ~ -15 $^{\circ}$ C で、使い捨ての 50 μ L アリコートとして最長 3 週間保管できます。

ライブラリーと PhiX コントロールの混合 (DNA のみ、または DNA と RNA)

- マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ 変性済み 20 pM PhiX コントロール (2.5 μ L)
 - ▶ 変性済み TruSight Oncology 500 ライブラリー (1700 μ L)
- ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。
- 試薬カートリッジにロードする準備ができるまで、氷上に置いておきます。

ライブラリーと PhiX コントロールの混合 (RNA のみ)

- マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ 変性済み 20 pM PhiX コントロール (16.7 μ L)
 - ▶ 変性済み TruSight Oncology 500 ライブラリー (1646 μ L)
- ボルテックスして混合した後、短時間遠心します。

- 3 試薬カートリッジにロードする準備ができるまで、氷上に置いておきます。

次の手順

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ら、ライブラリーを試薬カートリッジにロードし、シーケンスランをセットアップする準備が整います。『NextSeq 500 System Guide』（文書番号：15046563）または『NextSeq 550 System Guide』（文書番号：15069765）を参照してください。

トラブルシューティングラン用の PhiX の調製

以下の手順に従って、PhiX のみのシーケンスランとして使用するために PhiX ライブラリーを変性および希釈します。PhiX のみでのランの実行は、装置性能の確認やトラブルシューティングの目的で役に立ちます。PhiX のみのランでは、推奨される体積およびローディング濃度の 100 % PhiX ライブラリーが必要です。先に進む前に、18 ページの「試薬の調製」の説明に従って試薬を調製します。

4 nM への PhiX の希釈

- 1 10 nM PhiX ストックのチューブを融解します（10 µL/チューブ）。
- 2 マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ 10 nM PhiX（10 µL）
 - ▶ RSB（15 µL）
 総体積 25 µL の 4 nM PhiX が得られます。
- 3 軽くボルテックスした後、パルス遠心します。



注意

（オプション）4 nM PhiX を -25 °C ~ -15 °C で最長 3 か月保管できます。

PhiX の変性

- 1 マイクロチューブに以下の体積を混ぜ合わせます。
 - ▶ 4 nM PhiX（5 µL）
 - ▶ 新しく希釈した 0.2 N NaOH（5 µL）
- 2 軽くボルテックスした後、パルス遠心します。
- 3 室温で 5 分間インキュベートします。
- 4 5 µL の 200 mM Tris-HCl, pH 7.0 を添加します。
- 5 軽くボルテックスして、280 × g で 1 分間遠心します。

変性済み PhiX のローディング濃度への希釈

- 1 変性済み PhiX のチューブに、985 µL の事前冷却済み HT1 を添加します。総体積は、20 pM で 1 mL です。
- 2 次のように、変性済み 20 pM PhiX を 1.8 pM に希釈します。
 - ▶ 変性済み PhiX（117 µL）
 - ▶ 事前冷却済み HT1（1183 µL）
 総体積は、1.8 pM で 1.3 mL です。
- 3 転倒混和し、280 × g で 1 分間遠心します。
- 4 ライブラリーを試薬カートリッジにロードする準備ができるまで、氷上に置いておきます。

改訂履歴

文書番号	日付	変更内容
文書番号：15048776 v16	2020年 7月	社内用途のために更新。内容の変更なし。
文書番号：15048776 v15	2020年 4月	TruSight Oncology 500 プロトコールが、互換性のあるすべての TSO 500 製品に適用されることを明記。
文書番号：15048776 v14	2020年 3月	文書タイトルに NextSeq のバージョン (NextSeq 500 および NextSeq 550) を明記。
文書番号：15048776 v13	2019年 11月	TruSight Oncology 500 に関する以下の情報を追加。 <ul style="list-style-type: none"> シーケンスランごとのライブラリー数および可能となる DNA/RNA の組み合わせについてのガイドライン。 3つのオプションのいずれかを選択して、ライブラリーをプーリング、変性、希釈することの明確化。
文書番号：15048776 v12	2019年 10月	TruSight Oncology 500 ライブラリーを変性および希釈するための新しい RNA のみのプロトコールを追加。 プロトコール F の変性および希釈方法に関する共通のトピックを統合。 TruSight Oncology 500 について、シーケンスランごとのライブラリー数および可能となる DNA/RNA の組み合わせについてのガイドラインを削除し、その情報を TruSight Oncology 500 サポートページ に移動。
文書番号：15048776 v11	2019年 4月	TruSight Oncology 500 DNA および RNA ライブラリーを変性および希釈するための新しいプロトコールを追加。 プロトコール E および F のインキュベーターのインスタンスをヒートブロックに置き換え。 機器のリストにヒートブロックとサーマルサイクラーを追加。 PhiX コントロールの変性と希釈の手順を更新し、互換性のあるプロトコールをより明確化。
文書番号：15048776 v10	2019年 2月	プロトコール C の推奨される最終ローディング濃度の表を単一の推奨濃度範囲に置き換え。
文書番号：15048776 v09	2018年 12月	TruSight Tumor 170 ライブラリーを変性および希釈するための新しいプロトコールを追加。 TruSight Tumor 170 用の PhiX を変性および希釈するための新しい手順を追加。 TruSight Oncology 500 ライブラリーをプーリング、変性、希釈するための新しいプロトコールを追加。 TruSight Oncology 500 用の PhiX を変性および希釈するための新しい手順を追加。
文書番号：15048776 v08	2018年 11月	プロトコール D の AmpliSeq for Illumina Myeloid Panel のプーリング率を修正。
文書番号：15048776 v07	2018年 11月	プロトコール C の AmpliSeq for Illumina Myeloid Panel のプーリング率を修正。 AmpliSeq for Illumina Childhood Cancer Research Assay Panel のプーリング率を追加。
文書番号：15048776 v06	2018年 10月	AmpliSeq Library Equalizer for Illumina ワークフローを用いて調製されたライブラリーを変性および希釈するためのプロトコール D を追加。
文書番号：15048776 v05	2018年 7月	AmpliSeq Myeloid Panel for Illumina のプーリング率を追加。
文書番号：15048776 v04	2018年 5月	Mid Output Kit のローディング濃度に関する注意を追加。 High Output Kit および Mid Output Kit に関する情報を追加。 プロトコール C での PhiX の使用に関する警告を削除。

文書番号：15048776 v16 JPN

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。
 性能評価に限定されます。

文書番号	日付	変更内容
文書番号：15048776 v03	2018年 4月	AmpliSeq for Illumina パネルを変性および希釈するためのプロトコール C を追加。
文書番号：15048776 v02	2016年 1月	ビーズベースの手順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および希釈の手順を追加。手順をプロトコール A およびプロトコール B として構成。コントロールとして使用するために PhiX を 1.8 pM に希釈する手順を追加。
文書番号：15048776 v01	2015年 10月	PhiX の調製手順から余分なボルテックスおよび遠心の手順を削除。NCS v1.2 ソフトウェアを使用する手順を削除。
パーツ番号：15048776 Rev. E	2015年 5月	タイトルを『NextSeq System Denature and Dilute Libraries Guide』に変更。本ガイドは NextSeq 500 システムおよび NextSeq 550 システムに適用。
パーツ番号：15048776 Rev. D	2014年 10月	PhiX 添加を使用してライブラリーを混合する場合および NCS v1.2 を使用する場合のライブラリー体積を 2995 μ L に修正。 トラブルシューティングの目的での PhiX のみのラン実行についての情報を追加。
パーツ番号：15048776 Rev. C	2014年 9月	安全データシート (SDS) の URL を jp.support.illumina.com/sds.html に更新。 NextSeq 製品の商標記号を「™」から「®」に更新。
パーツ番号：15048776 Rev. B	2014年 8月	1.8 pM のライブラリーローディング濃度を調製するための手順を追加し、1.3 mL のローディング体積を削除。この変更を適用するには、NCS v1.3 が必要。 0.5 nM ライブラリーを変性および希釈する場合の体積を修正。 安全データシート (SDS) の URL を jp.support.illumina.com/sds.html に更新。
パーツ番号：15048776 Rev. A	2014年 1月	初版リリース。

テクニカルサポート

技術的な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
電子メール：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	

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
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。
性能評価に限定されます。**

© 2020 Illumina, Inc. All rights reserved.

illumina[®]