

Illumina COVIDSeq RUO Kits

Reference Guide



文書番号 : 1000000126053 v06 JPN

2021年7月

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断目的での使用はできません。

ILLUMINA PROPRIETARY

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、他の目的で使用・配布したり、イルミナの書面による事前の同意なしに送付・開示・複製することを禁じます。本文書により、イルミナが、当社の特許権・商標権・著作権・慣習法に基づく権利や、第三者の同様の権利の下で、ライセンスを譲渡することはありません。

本文書に記載されている製品が正しく安全に使用されるよう、資格要件を満たし、適切に訓練を受けた担当者が、本文中の手順に厳格かつ明確に従わなければなりません。それらの製品を使用する前に、本文書の内容をすべて読み、理解しなければなりません。

本文中の手順をすべて読まず、明確に従わない場合は、製品が損傷したり、使用者やその他の人に被害が及んだり、他の資産が損傷したりするおそれがあり、これらの製品に適用される保証が無効となります。

イルミナは、本文書に記載されている製品（それらの部品やソフトウェアも含む）の不適正使用によって生じた責任は一切負いません。

© 2021 Illumina, Inc. All rights reserved.

商標はすべて、Illumina, Inc. または各所有者の所有物です。商標に関する詳細は、www.illumina.com/company/legal.html をご覧ください。

改訂履歴

文書	日付	変更内容
文書番号： 1000000126053 v06	2021 年 7 月	iSeq 100 システムとの互換性に関する情報を該当箇所（「はじめに」、「ライブラリーのプーリングと希釈」、「シーケンスの準備」のセクション）に追加。 Illumina COVIDSeq Test (RUO) のサンプルシートに関する情報を付録に移動。 Illumina COVIDSeq Assay の命名規則とキットの構成を更新し、現在市場で使用されているものを反映。 「シーケンスの準備」のセクションを再編成し、使いやすさを改善。 シーケンス用消耗品に関する冗長な情報を「シーケンスの準備」のセクションから削除。この情報は付録中の「消耗品および機器」一覧に残されている。
文書番号： 1000000126053 v05	2021 年 6 月	96 サンプル用の Illumina COVIDSeq Assay で使用することを説明するため、ガイド名を『Illumina COVIDSeq RUO Kits Reference Guide』に変更。 96 サンプル用 Illumina COVIDSeq Assay に関する情報を、「はじめに」、「DNA の抽出」、「ライブラリーのプーリングとクリーンアップ」、「ライブラリーのプーリングと希釈」、「シーケンスの準備」のセクションに追加。 MiSeq システムおよび MiniSeq システムとの互換性に関する情報を、「はじめに」、「ライブラリーのプーリングと希釈」、「シーケンスの準備」のセクションに追加。 「キットの内容」という新たなセクションを 96 サンプル用 Illumina COVIDSeq Assay の付録 A に追加。 COVIDSeq Positive Control (CPC) の調製に関する手順を新たに付録 B に移動し、Illumina COVIDSeq Assay に適合するように更新。
文書番号： 1000000126053 v04	2021 年 4 月	バリエーション解析ソフトウェアのオプションに関する情報を「はじめに」と「シーケンスの準備」のセクションに追加。 バッチサイズがロースループットの場合にはライブラリー調製を複数回行うというテクニカルノートに参考文献を追加。 Illumina COVIDSeq Test (3072 samples) を「キットの内容」セクションで 8 箱構成から 4 箱構成に更新。 「シーケンスの準備」のセクションのリード長に関する推奨事項を更新。 マイクロタイタープレートの互換性確認のための、サーマルサイクラーに関する推奨事項を更新。

文書	日付	変更内容
文書番号： 1000000126053 v03	2021 年 2 月	<p>NextSeq 2000 システムのための BaseSpace Sequence Hub での解析セットアップに関する手順およびその他の NextSeq 2000 システム固有の情報をプロトコール全体に追加。</p> <p>サーマルサイクラーに関する推奨事項を追加。</p> <p>「シーケンスの準備」、「製品の構成要素」、「消耗品および機器」のセクションで、材料・消耗品・機器の製品番号（NextSeq 2000 システムの新たな消耗品を含む）を更新。</p> <p>NovaSeq 6000 システムのフローセルおよびコントロールソフトウェアのバージョン番号を更新。</p> <p>RNA 抽出における Dilution 3 のチューブを 5 mL LoBind チューブに更新。</p> <p>「Quick-DNA/RNA Viral MagBeadの手順」のプロトコールのオプションを更新し、精度と明確さを改善。</p> <p>Amplify cDNA Preparation 用サーマルサイクラーの PCR プログラム中の温度を 65°C から 63°C に更新。</p>
文書番号： 1000000126053 v02	2020 年 7 月	<p>Quick-DNA/RNA Viral Magbead キットを用いて RNA 抽出する場合の手順を追加。</p> <p>ライブラリーのプーリングとクリーンアップの後に安全なストップポイントを追加。</p> <p>インデックスキットの構成を IDT for Illumina-PCR indexes に更新。</p> <p>シーケンシングの手順を削除。</p> <p>NovaSeq 6000 システム SP フローセル、NextSeq 500 システム、NextSeq 550 システム、NextSeq 550Dx Instrument での希釈とシーケンスの準備に関する手順を追加。</p> <p>データ解析に関する情報を『Illumina COVIDSeq Test Pipeline Software Guide』（文書番号：1000000128122）に移動。</p>
文書番号： 1000000126053 v01	2020 年 6 月	内容変更なし。
文書番号： 1000000126053 v00	2020 年 6 月	初版。

目次

改訂履歴.....	iii
第 1 章 概要	1
はじめに.....	1
推奨インプット量.....	1
第 2 章 ライブラリー調製	2
はじめに.....	2
ヒントとテクニック.....	3
RNA 抽出.....	4
RNA のアニーリング.....	5
第 1 鎖 cDNA の合成.....	5
cDNA 増幅.....	6
PCR アンプリコンのタグメンテーション.....	8
タグメンテーション後のクリーンアップ.....	9
タグメンテーションしたアンプリコンの増幅.....	10
ライブラリーのプーリングとクリーンアップ.....	11
ライブラリーの定量とノーマライゼーション.....	13
ライブラリーのプーリングと希釈.....	13
シーケンスの準備.....	14
付録 A サポート情報	17
Illumina COVIDSeq Assay Kit (96 サンプル) の内容.....	17
Illumina COVIDSeq Test (RUO) Kit (3072 Samples) の内容.....	18
消耗品および機器.....	20
付録 B COVIDSeq Positive Control の調製	24
COVIDSeq Positive Control の調製.....	24
付録 C Illumina DRAGEN COVIDSeq Test Pipeline のサンプルシート	26
サンプルシートの要件.....	26
テクニカルサポート	28

第1章 概要

はじめに	1
推奨インプット量.....	1

はじめに

本ガイドでは、2種類の研究用キット、COVIDSeq Test (RUO) と COVIDSeq Assay (96 Samples) のいずれかを用いた SARS-CoV-2 ウイルスを検出する方法について解説します。Illumina COVIDSeq Test はハイスループレット (HT) シーケンス、Illumina COVIDSeq Assay はロースループレット (LT) シーケンスのためのサンプル処理に適しています。

Illumina COVIDSeq Test では、NovaSeq 6000 システムを用いた場合には最大 3072 個、NextSeq 500/550 システム、RUO モードの NextSeq 550Dx システム、NextSeq 2000 システムのいずれかを用いた場合には最大 384 個のサンプルを調製することができます。Illumina COVIDSeq Assay では、iSeq 100 システム、MiSeq システム、MiniSeq システムのいずれかを用いて、最大 96 個のサンプルを調製することができます。表 1 に、これら 2 種類のキットオプションの相違点 (一部) を示します。

表 1 Illumina COVIDSeq (RUO) Kit オプションの比較

キット名	サンプル	推奨システム	インデックス	陽性コントロール
Illumina COVIDSeq Test (RUO)	最大 3072 個	NovaSeq 6000 システム、NextSeq 500/550 システム、RUO モードの Next Seq 550Dx システム、NextSeq 2000 システムのいずれか	別売	同梱
Illumina COVIDSeq Assay	最大 96 個	iSeq 100 システム、MiSeq システム、MiniSeq システムのいずれか	同梱	別売

Illumina COVIDSeq (RUO) Kit と Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) のいずれも、以下に対応しています。

- ▶ RNA 抽出キットを使用した、不活化済みの鼻咽頭 (NP)、口腔咽頭 (OP)、および鼻腔スワブサンプル、ならびに COVID-19 の臨床基準または疫学的基準を満たした個人から採取された中鼻甲介検体由来の RNA 抽出物に対応しています。推奨キットとしては QIAamp Viral RNA Mini Kit または Quick-DNA/RNA Viral Magbead Kit があります。
- ▶ ローカルでの Illumina DRAGEN COVIDSeq Test Pipeline、もしくは BaseSpace Sequence Hub 上の Illumina DRAGEN COVIDSeq Test App を使用した SARS-CoV-2 RNA の定性的検出に対応しています。

どちらのキットも、ローカルの DRAGEN COVID Pipeline と COVID Lineage Tools の併用、または BaseSpace Sequence Hub の DRAGEN COVID Lineage App を使用することで、SARS-CoV-2 ウイルスゲノムの特徴に関するサーベイランスにも使用できます。

推奨インプット量

Illumina COVIDSeq Test (RUO) および Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) は、患者の鼻咽頭 (NP) スワブ、咽頭 (OP) スワブ、鼻腔スワブに由来するサンプルに対応しています。サンプルは、各地域の病原体輸送に関する管理規制に従って輸送します。

サンプルは、サンプル輸送に使用するチューブの製造業者指定の方法に従って保管します。長期にわたる保管は検査結果に悪影響を及ぼします。

以下のサンプル要因が SARS-CoV-2 検出に影響を及ぼすことがあります。

- ▶ サンプル採取方法、患者要因、感染段階。
- ▶ 輸送や保管中のウイルス RNA の分解。RNA の分解により偽陰性の結果が得られることがあります。

警告

検体はすべて、感染性病原体として取り扱ってください。

第2章 ライブラリー調製

はじめに	2
ヒントとテクニック	3
RNA 抽出	4
RNA のアニーリング	5
第1鎖 cDNA の合成	5
cDNA 増幅	6
PCR アンプリコンのタグメンテーション	8
タグメンテーション後のクリーンアップ	9
タグメンテーションしたアンプリコンの増幅	10
ライブラリーのプーリングとクリーンアップ	11
ライブラリーの定量とノーマライゼーション	13
ライブラリーのプーリングと希釈	13
シーケンスの準備	14

はじめに

本章では、Illumina COVIDSeq Test (RUO) か、Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) のいずれかを用いたライブラリー調製について解説します。

- ▶ キットの中身を確認し、必要な機器と消耗品が揃っていることを確認してください。概要 (1 ページ) を参照してください。



注記

Illumina COVIDSeq Test (RUO) Kit 中の試薬には、ハイスループットシーケンス用であることを示す、「HT」と記載されたラベルが貼付されています。Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) 中の試薬には、そのようなラベルは貼付されていません。

- ▶ 規定の分量およびインキュベーションパラメーターを用いて、記載順にプロトコールを実行してください。
- ▶ 試薬の使用期限が切れていないことを確認してください。使用期限切れの試薬を使用すると、性能に悪影響が及ぶことがあります。
- ▶ 検出に Illumina COVIDSeq Test (RUO) を用いる場合は、96 ウェルプレートごとに1個のテンプレートなしのコントロール (NTC) と1個の陽性コントロールを含めてください。Illumina COVIDSeq Test (RUO) には COVIDSeq Positive Control (CPC) が同梱されています。調製に関する手順については、COVIDSeq Positive Control の調製 (24 ページ) を参照してください。
- ▶ Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) の場合や、サーベイランスに Illumina COVIDSeq Test (RUO) を用いる場合は、品質管理上、NTC と陽性コントロールが推奨されますが、必須ではありません。Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) には、陽性コントロールは同梱されていませんが、必要であれば別途購入可能です。
- ▶ Illumina COVIDSeq Test (RUO) でライブラリー調製を複数回行う場合は、イルミナのテクニカルノート「Aliquot Procedure for Illumina COVIDSeq Test (RUO version) Kit Reagents」を参照してください。
- ▶ CPC の凍結融解サイクルを複数回繰り返さないでください。ライブラリー調製を複数回行う場合は、CPC を低吸着チューブに分注し、-85°C ~ -65°C で保管してください。
- ▶ CPC 以外の試薬については、凍結融解サイクルを8回までとしてください。
- ▶ プーリング後はできる限りすぐにライブラリーのシーケンスを実施してください。プーリングされたライブラリーは、-25°C ~ -15°C で最長 30 日間安定状態にあります。

ヒントとテクニック

プロトコールに安全なストップポイントが指定されていない場合は、ただちに次のステップに進みます。

汚染の予防

- ▶ ヌクレアーゼやPCR産物のコンタミネーションを防ぐため、適切な研究室業務を実践してください。ヌクレアーゼやPCR産物のコンタミネーションにより、不正確で信頼性のない結果となることがあります。
- ▶ ライブラリー調製は RNase/DNase フリーの環境で行ってください。作業場を RNaseZap や DNAZap などの RNase/DNase 阻害剤でしっかり除染してください。
- ▶ サンプルごとに、また試薬を調剤するごとに、新しいチップと新しい消耗品を使用してください。
- ▶ キャリーオーバーやサンプル間クロスコンタミネーションのリスクを軽減するため、フィルター付きチップを使用してください。
- ▶ 汚染の可能性があるため、細心の注意を払って、ウェルの内容物がウェル内に完全に収まっていることを確認してください。内容物を飛び散らせないでください。
- ▶ ライブラリー調製を行う際にエアロゾルのブリーチスプレーを使用しないでください。微量のブリーチ剤の混入でもアッセイの失敗につながる可能性があります。
- ▶ プレ PCR 環境からポスト PCR 環境に移動する場合には、一方向のワークフローを用いてください。
- ▶ プレートごとに 1 個以上のテンプレートなしのコントロール (NTC) を用いて汚染をモニタリングすることを推奨します。

プレートの密封と開封

- ▶ 本プロトコールでは、以下のステップの前に、必ず 96 ウェルプレートをシールしてください。
 - ▶ 攪拌ステップ
 - ▶ ボルテックスステップ
 - ▶ 遠心ステップ
 - ▶ サーマルサイクリングステップ
- ▶ プレートをシールするには、プレートに粘着カバーをし、ウェッジやゴムローラーで密閉します。
- ▶ クロスコンタミネーションや蒸発のリスクを軽減するため、端とウェルが完全にシールされている状態にします。
- ▶ Microseal 'B' 粘着シールは -40°C ~ 110°C で効果があり、スカート付きまたはセミスカート付きの PCR プレートに適しています。Microseal 'B' は、攪拌、遠心、長期保管に使用します。
- ▶ 開封前：
 - ▶ 96 ウェルプレートを 1000 × g で 1 分間遠心します。ビーズステップでは、500 × g で 1 分間遠心します。
 - ▶ プレートを平らな所に置き、ゆっくり開封します。

プレートの移動

- ▶ プレート間で溶液を移す場合、指定された容量をプレートの各ウェルから別のプレートの対応するウェルに移します。
- ▶ もしビーズがピペットチップに吸引されてしまった場合は、磁気スタンド上のプレートに分注して戻し、液体が透明になるまで待ちます (~ 2 分間)。

遠心分離

- ▶ 本手順のすべてのステップにおいて、液体やビーズをウェル底部に集め、サンプルロスを防ぐため、必要に応じて遠心します。

ビーズの取扱い

- ▶ ビーズ懸濁液を、液体がはねたり、気泡が生じたりしないように、ゆっくりピペティングします。
- ▶ 混合する際は、しっかり混合します。
- ▶ サンプルロス为了避免のため、再懸濁ステップと混合ステップの後にはピペット先端にビーズが残っていないことを確認します。
- ▶ ビーズを洗浄する際：
 - ▶ プレートに合ったマグネットを使用してください。
 - ▶ 液体は、ウェルの側面に張り付いているビーズが濡れるように分注します。
 - ▶ プレートはマグネットから取り外すよう指示されるまで磁気スタンドに載せたままにしておきます。
 - ▶ 磁気スタンドに載せている間はプレートを攪拌しないでください。ビーズペレットを動かさないでください。

RNA 抽出

このステップでは、不活化済みウイルス輸送培地チューブから RNA を抽出します。Quick-DNA/RNA Viral MagBead (Zymo Research 社、製品番号 R2141) か、QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen 社、製品番号 52906)のいずれかを用いて RNA を抽出することができます。使用する抽出法に対応する手順に従ってください。

COVIDSeq Positive Control を使用する場合は、必ず、[COVIDSeq Positive Control の調製 \(24 ページ\)](#) の調製手順に従ってください。

消耗品

- ▶ **[QIAamp Viral RNA Mini Kit]** 1.7 mL LoBind チューブ
- ▶ **[Quick-DNA/RNA Viral MagBead]** 2000 μ L 96 ディープウェルプレート

Quick-DNA/RNA Viral MagBead の手順

- 1 各サンプルごとに 400 μ L の患者サンプルを新しいディープウェルプレートに添加します。
コントロールを使用する場合、dilution 3 の CPC (陽性コントロール) と ELB (テンプレートなしのコントロール) をサンプルバッチあたり各 1 チューブ含めます。
- 2 RNA 抽出には Quick-DNA/RNA Viral MagBead を使用します。詳細については、Zymo Research 社の **Quick-DNA/RNA Viral MagBead の取扱説明書**を参照してください。
以下のプロトコールオプションを用いてください。
 - ▶ MagBinding Beads を添加する前に、上下に 10 回ピペティングして混合します。
 - ▶ MagBinding Beads 20 μ L を添加後、上下に 10 回ピペティングして混合し、1500 rpm で 10 分間攪拌します。

QIAamp Viral RNA Mini Kit の手順

- 1 各サンプルごとに 140 μ L の患者サンプルを新しい 1.7 mL マイクロチューブに添加します。
コントロールを使用する場合、dilution 3 の CPC (陽性コントロール) と ELB (テンプレートなしのコントロール) をサンプルバッチあたり各 1 チューブ含めます。
- 2 RNA 抽出には QIAamp Viral RNA Mini Kit を使用します。詳細については、QIAGEN 社のウェブサイトにある **QIAamp Viral RNA Mini Handbook (文書番号: HB-0354-007)** を参照してください。
以下のプロトコールオプションを用いてください。
 - ▶ スピンプロトコールを用いてウイルス RNA を精製します。
 - ▶ 溶出液を 1 分間以上インキュベーションします。
 - ▶ 60 μ L ではなく 30 μ L の Buffer AVE 中に溶出させます。

RNA のアニーリング

このプロセスでは、cDNA 合成の前準備としてランダムヘキサマーと抽出した RNA をアニーリングさせます。

COVIDSeq Positive Control を使用する予定があり、まだコントロールを調製していない場合、適切な手順に従うため COVIDSeq Positive Control の調製 (24 ページ) を確認してください。

消耗品

- ▶ EPH3 (Elution Prime Fragment 3HC Mix)
- ▶ 96 ウェル PCR プレート
- ▶ Microseal 'B' 粘着シール

試薬について

- ▶ 使用前に毎回ボルテックスにかけてください

準備

- 1 次の消耗品を準備します。

試薬	保管	手順
EPH3	-25°C ~ -15°C	室温で融解し、転倒混和します。

- 2 以下の COVIDSeq Anneal プログラムをサーマルサイクラーに保存します。

- ▶ 「リッドのプレヒート」オプションを選択します
- ▶ 反応量を 17 μ L に設定します
- ▶ 65°C で 3 分間
- ▶ 4°C で保持します

手順

- 1 新しい PCR プレートに CDNA1 とラベルします。
- 2 各ウェルに EPH3 を 8.5 μ L 添加します。
- 3 各ウェルに溶出サンプルを 8.5 μ L 添加します。
- 4 シールし、1600 rpm で 1 分間攪拌します。
- 5 1000 \times g で 1 分間遠心します。
- 6 事前にプログラムしたサーマルサイクラーにセットし、COVIDSeq Anneal プログラムを実行します。

第 1 鎖 cDNA の合成

このステップでは、逆転写酵素を用いてランダムヘキサマーをアニーリングさせた RNA 断片を first strand cDNA に逆転写します。

消耗品

- ▶ FSM (First Strand Mix)
- ▶ RVT (Reverse Transcriptase)
- ▶ 1.7 mL チューブ (96 ウェルサンプルプレート当たり 1 本)
- ▶ Microseal 'B' 粘着シール

準備

- 1 次の消耗品を準備します。

試薬	保管	手順
FSM	-25°C～-15°C	融解して室温に戻します。転倒混和し、氷上保存します。
RVT	-25°C～-15°C	使用前に転倒混和します。氷上保存します。

- 2 以下の COVIDSeq FSS プログラムをサーマルサイクラーに保存します。

- ▶ 「リッドのプレヒート」オプションを選択します
- ▶ 反応量を 25 µL に設定します
- ▶ 25°C で 5 分間
- ▶ 50°C で 10 分間
- ▶ 80°C で 5 分間
- ▶ 4°C で保持します

手順

- 1 1.7 mL チューブ内で、以下の分量を混合して First Strand cDNA Master Mix を調製します。それぞれの分量にサンプルの数を掛けます。
 - ▶ FSM (9 µL)
 - ▶ RVT (1 µL)
 試薬は多少のピペッティングエラーを考慮して多めに含まれています。
- 2 CDNA1 プレートの各ウェルに、マスターミックスを 8 µL 添加します。
- 3 シールし、1600 rpm で 1 分間攪拌します。
- 4 1000 × g で 1 分間遠心します。
- 5 事前にプログラムしたサーマルサイクラーにセットし、COVIDSeq FSS プログラムを実行します。

安全なストップポイント

手順を停止する場合、プレートをシールし、-25°C～-15°Cで最長7日間保管できます。

cDNA 増幅

このステップでは、PCR 反応を 2 つにわけて cDNA を増幅します。

消耗品

- ▶ IPM (Illumina PCR Mix)
- ▶ CPP1 (COVIDSeq Primer Pool 1)
- ▶ CPP2 (COVIDSeq Primer Pool 2)
- ▶ ヌクレアーゼフリー水
- ▶ 15 mL チューブ (96 ウェルサンプルプレート 4 個当たり 2 本)
- ▶ 96 ウェル PCR プレート (2 個)
- ▶ Microseal 'B' 粘着シール

準備

- 1 次の消耗品を準備します。

試薬	保管	手順
CPP1	-25℃～-15℃	室温で融解します。使用時まで氷上保存します。
CPP2	-25℃～-15℃	室温で融解します。使用時まで氷上保存します。
IPM	-25℃～-15℃	室温で融解し、転倒混和します。使用時まで氷上保存します。

- 2 以下の COVIDSeq PCR プログラムをサーマルサイクラーに保存します。

- ▶ 「リッドのプレヒート」 オプションを選択します
- ▶ 反応量を 25 μ L に設定します
- ▶ 98℃で 3 分間
- ▶ 以下で 35 サイクル：
 - ▶ 98℃で 15 秒間
 - ▶ 63℃で 5 分間
- ▶ 4℃で保持します

手順

- 1 新しい PCR プレート 2 枚に、COV1 および COV2 とラベルします。
これらのプレートは、CDNA1 プレート内のサンプルとコントロールに対して、PCR を 2 つに分けて反応させるためのものです。
- 2 15 mL チューブ内で、以下の分量を混合して、COVIDSeq PCR 1 Master Mix および COVIDSeq PCR 2 Master Mix を調製します。それぞれの分量にサンプルの数を掛けます。
試薬は多少のピペッティングエラーを考慮して多めに含まれています。

試薬	COVIDSeq PCR 1 Master Mix (μ L)	COVIDSeq PCR 2 Master Mix (μ L)
IPM	15	15
CPP1	4.3	N/A
CPP2	N/A	4.3
ヌクレアーゼフリー水	4.7	4.7

- 3 CDNA1 プレートの各ウェルに対応する COV1 プレートの各ウェルに、COVIDSeq PCR 1 Master Mix を 20 μ L 添加します。
- 4 CDNA1 プレートの各ウェルから、COV1 プレートの対応するウェルに、第 1 鎖 cDNA 合成を 5 μ L 添加します。
- 5 CDNA1 プレートの各ウェルに対応する COV2 プレートの各ウェルに、COVIDSeq PCR 2 Master Mix を 20 μ L 添加します。
- 6 CDNA1 プレートの各ウェルから、COV2 プレートの対応するウェルに、第 1 鎖 cDNA 合成を 5 μ L 添加します。
- 7 シールし、1600 rpm で 1 分間攪拌します。
- 8 1000 x g で 1 分間遠心します。
- 9 事前にプログラムしたサーマルサイクラーにセットし、COVIDSeq PCR プログラムを実行します。

安全なストップポイント

手順を停止する場合、プレートにシールし、-25℃～-15℃で最長3日間保管できます。

PCR アンプリコンのタグメンテーション

このステップでは、EBLTS を使って PCR アンプリコンのタグメンテーションを実施します。タグメンテーションとは、PCR アンプリコンを断片化して、アダプター配列をタグ付けするプロセスです。

消耗品

- ▶ EBLTS (Enrichment BLT)
- ▶ TB1 (Tagmentation Buffer 1)
- ▶ ヌクレアーゼフリー水
- ▶ 1.7 mL チューブ
- ▶ 15 mL チューブ (96 ウェルサンプルプレート 4 個当たり 1 本)
- ▶ 96 ウェル PCR プレート
- ▶ Microseal 'B' 粘着シール

試薬について

- ▶ EBLTS は、2℃以上の温度で、直立状態で保管します。ビーズがバッファーに常に完全に浸かるようにします。
- ▶ ビーズが 96 ウェルプレートの側面や上部に付着している場合、500 × g で 1 分間の遠心後、ピペッティングで懸濁します。

準備

- 1 次の消耗品を準備します。

試薬	保管	手順
EBLTS	2℃～8℃	室温に戻します。使用前にしっかりボルテックスします。
TB1	-25℃～-15℃	室温に戻す。使用前にしっかりボルテックスします。

- 2 COV1 プレートと COV2 プレートが冷凍保存されていた場合は、次のとおり調製します。
 - a 室温で融解します。
 - b シールされていることを確認し、1600 rpm で 1 分間攪拌します。
 - c 1000 × g で 1 分間遠心すします
- 3 以下の COVIDSeq TAG プログラムをサーマルサイクラーに保存します。
 - ▶ 「リッドのプレヒート」オプションを選択します
 - ▶ 反応量を 50 μL に設定します
 - ▶ 55℃で 5 分間
 - ▶ 10℃で保持します

手順

- 1 新しい PCR プレートに TAG1 とラベルします。
- 2 COV1 と COV2 を次のとおり混合します。

- a COV1 プレートの各ウェルから 10 μ L を、TAG1 プレートの対応するウェルに移します。
- b COV2 プレートの各ウェルから 10 μ L を、COV1 を移した TAG1 プレートの各ウェルに移します。
- 3 15 mL チューブ内で、以下の分量を混合して Tagmentation Master Mix を調製します。それぞれの分量にサンプルの数を掛けます。
 - ▶ TB1 (12 μ L)
 - ▶ EBLTS (4 μ L)
 - ▶ ヌクレアーゼフリー水 (20 μ L)
- 4 TAG1 プレートの各ウェルに、マスターミックスを 30 μ L 添加します。
- 5 シールし、1600 rpm で 1 分間攪拌します。
- 6 事前にプログラムしたサーマルサイクラーにセットし、COVIDSeq TAG プログラムを実行します。

タグメンテーション後のクリーンアップ

このステップでは、PCR 増幅の前にアダプター付加したアンプリコンを洗浄します。

消耗品

- ▶ ST2 (Stop Tagment Buffer 2)
- ▶ TWB (Tagmentation Wash Buffer)
- ▶ Microseal 'B' 粘着シール

試薬について

- ▶ ST2 と TWB をゆっくりと分注して泡立ちを最小限に抑えます。
- ▶ TWB をビーズ上に直接分注します。

準備

- 1 次の消耗品を準備します。

試薬	保管	手順
ST2	室温	使用前にボルテックスします。
TWB	2°C ~ 8°C	使用前にボルテックスします。

手順

- 1 TAG1 プレートを 500 x g で 1 分間遠心します。
- 2 TAG1 プレートの各ウェルに、ST2 を 10 μ L 添加します。
- 3 シールし、1600 rpm で 1 分間攪拌します。
- 4 室温で 5 分間インキュベートします。
- 5 500 x g で 1 分間遠心します。
- 6 磁気スタンドに載せ、液体が透明になるまで (~ 3 分間) 待ちます。
- 7 シールの上に気泡がないか確認します。気泡がある場合は、500 x g で 1 分間遠心し、磁気スタンドに載せます (~ 3 分間)。
- 8 上清をすべて除去し、廃棄します。

- 9 次の手順でビーズを洗浄します。
 - a 磁気スタンドから外します。
 - b 各ウェルに TWB を 100 μ L 添加します。
 - c シールし、1600 rpm で 1 分間攪拌します。
 - d 500 \times g で 1 分間遠心します。
 - e 磁気スタンドに載せ、液体が透明になるまで (~ 3 分間) 待ちます。
 - f 初回洗浄の場合のみ、各ウェルからすべての上清を取り除き、廃棄します。
- 10 **2 回目**のビーズ洗浄を行います。
ビーズが乾燥しすぎないように、2 回目の洗浄ではプレートの上清を残しておきます。

タグメンテーションしたアンプリコンの増幅

このステップでは、PCR プログラムを使ってタグメンテーションされたアンプリコンを増幅します。PCR ステップでは、あらかじめ対になっている 10 bp の Index 1 (i7) アダプターと Index 2 (i5) アダプター、およびシーケンスクラスター形成に必要な配列を付加します。

消耗品

- ▶ EPM (Enhanced PCR Mix)
- ▶ インデックスアダプター (IDT for Illumina-PCR Indexes Set 1, 2, 3, 4)
- ▶ ヌクレアーゼフリー水
- ▶ 15 mL チューブ (96 ウェルサンプルプレート 2 個当たり 1 本)
- ▶ 96 ウェル PCR プレート

試薬について

- ▶ インデックスアダプタープレート
 - ▶ サンプルをインデックスプレートのウェルに添加しないでください。
 - ▶ インデックスプレートウェルは使い切りとし、再利用はしないでください。

準備

- 1 次の消耗品を準備します。

試薬	保管	手順
EPM	-25°C ~ -15°C	転倒混和します。使用時まで氷上保存します。
インデックスアダプター	-25°C ~ -15°C	室温で融解します。ボルテックスして混合し、1000 \times g で 1 分間遠心します。

- 2 調製したそれぞれのインデックスアダプタープレートを次のとおり開封します。インデックスセットごとに新しい PCR プレートを使用します。
 - a インデックスアダプタープレートの上に新しい 96 ウェル PCR プレートを重ねて押し下げ、ホイルシールに穴を開けます。
 - b PCR プレートを廃棄します。
- 3 以下の COVIDSeq TAG PCR プログラムをサーマルサイクラーに保存します。
 - ▶ リッドのプレヒートオプションを選択し、100°C に設定します
 - ▶ 反応量を 50 μ L に設定します

- ▶ 72°Cで3分間
- ▶ 98°Cで3分間
- ▶ 以下で7サイクル：
 - ▶ 98°Cで20秒間
 - ▶ 60°Cで30秒間
 - ▶ 72°Cで1分間
- ▶ 72°Cで3分間
- ▶ 10°Cで保持します

手順

- 1 15 mL チューブ内で、以下の分量を混合して PCR Master Mix を調製します。それぞれの分量にサンプルの数を掛けます。
 - ▶ EPM (24 μ L)
 - ▶ ヌクレアーゼフリー水 (24 μ L)
- 2 PCR Master Mix をボルテックスして混合します。
- 3 TAG1 プレートに磁気スタンドに載せたまま、TWB を除去します。
- 4 20 μ L ピペットで残存した TWB を除去します。
- 5 TAG1 プレートを磁気スタンドから外します。
- 6 各ウェルに PCR Master Mix を 40 μ L 添加します。
- 7 PCR プレートの各ウェルにインデックスアダプターを 10 μ L 添加します。
- 8 シールし、1600 rpm で1分間攪拌します。
- 9 シールに液体が見える場合は、500 x g で1分間遠心します。
- 10 ビーズが再懸濁されたことを確認します。再懸濁する場合は、ブランジャーを下げた状態でピペットを 35 μ L に設定し、ゆっくりピペッティングして混合します。
- 11 事前にプログラムしたサーマルサイクラーにセットし、COVIDSeq TAG PCR を実行します。

ライブラリーのプーリングとクリーンアップ

このステップでは、各 96 ウェルサンプルプレートのライブラリーを1本の 1.7 mL チューブにまとめます。その後、最適なサイズのライブラリーを磁気ビーズに結合し、長すぎるまたは短すぎる断片を除去します。

消耗品

- ▶ ITB (Illumina Tune Beads)
- ▶ RSB (Resuspension Buffer)
- ▶ 用時調製した 80% エタノール (EtOH)
- ▶ 1.7 mL チューブ (96 ウェルサンプルプレート当たり 2 本)
- ▶ **[Illumina COVIDSeq Test (RUO)]** PCR 8 連チューブ

試薬について

- ▶ ITB
 - ▶ 使用前に毎回ボルテックスにかけてください。

- ▶ ビーズが均一になるよう、頻繁にボルテックスしてください。
- ▶ 溶液の粘性が高いため、吸引や分注はゆっくり行ってください。

準備

- 1 次の消耗品を準備します。

試薬	保管	手順
ITB	室温	しっかりボルテックスして混合します。
RSB	2℃～8℃	30 分間静置し、室温に戻します。ボルテックスおよび転倒混和します。

- 2 プール済みライブラリー 1 チューブあたり、無水エタノールから用時調製した 80% エタノール 2.5 mL を準備します。

手順

- 1 TAG1 プレート を 500 × g で 1 分間遠心します。
- 2 磁気スタンドに載せ、液体が透明になるまで（～ 3 分間）待ちます。
- 3 ライブラリーのプーリングを行うには、使用キットに対応する以下のステップを行います。追加のサンプルプレートごとに、これらのステップを繰り返します。
 - a 新しい 1.7 mL チューブに Pooled ITB とラベルします。
 - b **[Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples)]** TAG1 プレートの各ウェルから、ライブラリーを 5 μL、Pooled ITB チューブに移します。
 - c **[Illumina COVIDSeq Test (RUO)]** 20 μL の 8 チャンネルピペットを用いて、TAG1 プレート各ウェルから、ライブラリーを 5 μL、PCR 8 連チューブに移します。プールライブラリーが行当たり 60 μL となります。列ごとにチップを交換します。
 - d **[Illumina COVIDSeq Test (RUO)]** PCR 8 連チューブの各ウェルから、プールライブラリーを 55 μL、Pooled ITB チューブに移します。これらの分量は、サンプルプレート 1 個当たり、プールライブラリー 440 μL となります。
- 4 Pooled ITB チューブをボルテックスして混合し、軽く遠心します。
- 5 ITB をボルテックスして懸濁します。
- 6 Pooled ITB Tube の溶液に対して 0.9 倍量の ITB を添加します。例えば、96 サンプルの場合には、各チューブに 396 μL の ITB を添加します。
- 7 ボルテックスして混合します。
- 8 室温で 5 分間インキュベートします。
- 9 軽く遠心します。
- 10 磁気スタンドに載せ、液体が透明になるまで（～ 5 分間）待ちます。
- 11 上清をすべて除去し、廃棄します。
- 12 次の手順でビーズを洗浄します。
 - a 磁気スタンドに載せたまま、各チューブに用時調製した 80% EtOH を 1000 μL ずつ添加します。
 - b 30 秒間待ちます。
 - c 上清をすべて除去し、廃棄します。
- 13 2 回目のビーズ洗浄を行います。
- 14 20 μL ピペットで残存した EtOH をすべて除去します。

15 RSB を 55 μ L 添加します。



注記

ライブラリーの収量は十分量あるため、サンプル数に関わらず RSB の量は一定で構いません。

16 ボルテックスして混合し、軽く遠心します。

17 室温で 2 分間インキュベートします。

18 磁気スタンドに載せ、液体が透明になるまで（～ 2 分間）待ちます。

19 各 Pooled ITB チューブから、上清を 50 μ L、新しいマイクロチューブに移します。

安全なストップポイント

中断する場合は、チューブにキャップをし、-25°C～ -15°Cで保存します（最長 30 日間）。

ライブラリーの定量とノーマライゼーション

1 Qubit dsDNA HS Assay キットを用いて、ライブラリープール 2 μ L を分析します。

ライブラリーが標準範囲外の場合、1:10 の濃度で希釈し、再度分析します。

2 以下の式を用いて、モル濃度を求めます。

▶ 平均ライブラリーサイズを 400 bp とします。

$$\frac{\text{Library concentration ng}/\mu\text{l}}{660 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times \text{average library size (bp)}} \times 10^6 = \text{Molarity (nM)}$$

3 RSB を使用し、各ライブラリープールを最小ボリューム 30 μ L、ノーマライズ濃度 4 nM となるように希釈します。

ライブラリーのプーリングと希釈

開始濃度の 4 nM に希釈後、ライブラリーを変性させて最終ローディング濃度に希釈します。

1 適切なインデックスアダプターセットを含むノーマライズ済みライブラリーを所定量、表 2 に示すそれぞれのサンプル数分、新しいマイクロチューブに移します。

ノーマライズ済みプールが複数ある場合は、それぞれのノーマライズ済みプールの所定量をチューブ内で混合します。そうすることで、最終プールが開始濃度の 4 nM に希釈されます。同じインデックスアダプターセットのプールを混ぜ合わせないでください。

表 2 変性と希釈に必要な各装置のノーマライズ済みライブラリーの所定量とサンプル数

シーケンスシステム	ラン当たりのノーマライズ済みライブラリー使用量 (μ L)	ノーマライズ済みライブラリーの最終プール当たりのサンプル数	フローセル当たりのサンプル数
iSeq 100 v1/v2 フローセル	2	4	4
MiSeq v2 フローセル	5	15	15
MiSeq v3 フローセル	5	24	24
MiniSeq HO フローセル	25	24	24
NextSeq 500/550/550Dx HO フローセル	25	384	384
NovaSeq 6000 SP フローセル	25	384	レーン当たり 384、 フローセル当たり 768
NovaSeq 6000 S4 フローセル	25	384	レーン当たり 384、 フローセル当たり 1536
NextSeq 1000/2000 P2 フローセル	25	384	384

- 2 使用するシステムの変性希釈手順に従って、最終ローディング濃度に希釈します。
- ▶ iSeq システムの場合は、『**iSeq 100 Sequencing System Guide (文書番号: 1000000036024)**』を参照してください。
 - ▶ MiSeq システムの場合は、『**MiSeq System Denature and Dilute Libraries Guide (文書番号: 15039740)**』を参照。
 - ▶ MiniSeq システムの場合は、『**MiniSeq System Denature and Dilute Libraries Guide (文書番号: 1000000002697)**』を参照。
 - ▶ NextSeq 500/550 システムおよび NextSeq 550Dx システムの場合は、『**NextSeq System Denature and Dilute Libraries Guide (文書番号: 15048776)**』を参照してください。
 - ▶ NovaSeq 6000 システムの場合は、『**NovaSeq 6000 Denature and Dilute Libraries Guide (文書番号: 1000000106351)**』を参照してください。
 - ▶ NextSeq 2000 システムの場合は、『**NextSeq 1000/2000 Sequencing System Guide (文書番号: 1000000109376)**』を参照してください。
- 3 使用するシステムに応じて、以下のローディング濃度を用います。

表 3 各装置のローディング濃度

システム	開始濃度 (nM)	最終ローディング濃度 (pM)
iSeq 100 v1/v2 フローセル	4	75
MiSeq v2 フローセル	4	10
MiSeq v3 フローセル	4	12
MiniSeq HO フローセル	4	1.2
NextSeq 500/550/550Dx HO フローセル	4	1.4
NovaSeq 6000 SP フローセル	4	100
NovaSeq 6000 S4 フローセル	4	100
NextSeq 1000/2000 P2 フローセル	4	1000

最終ローディング濃度への調整は、使用するシステムの変性と希釈の手順に従って行います。

シーケンスの準備

Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) は、iSeq 100 i1 試薬 v2、MiSeq 試薬キット v2 および v3、MiniSeq High Output (HO) 試薬キットに対応しています。

Illumina COVIDSeq Test (RUO) は、NovaSeq 6000 システム SP および S4 フローセル、NextSeq 2000 システム、NextSeq 500/550 システム、NextSeq 550Dx システムの各装置に対応しています。

使用システムに応じた `samplesheet.csv` ファイルを使用してください。これらのファイルは、Illumina COVIDSeq Research Use Only (RUO) Kits のサポートサイトにて、サンプルシートを作成するためのテンプレートとして入手できます。Illumina DRAGEN COVIDSeq Test Pipeline の具体的なサンプルシート要件については、[Illumina DRAGEN COVIDSeq Test Pipeline のサンプルシート \(26 ページ\)](#) を参照してください。

Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) のシーケンスランのセットアップ

ランのセットアップについては、各使用システムの文書および以下の情報を参照してください。

- ▶ リード長に関するガイダンスについては、イルミナのテクニカルノート『**Sequencing Guidelines for COVID-19 Surveillance Using the Illumina COVIDSeq Test (RUO Version)**』を参照してください。
- ▶ iSeq システムを使用する場合は、『**iSeq System Guide**』(文書番号: 1000000036024) を参照してください。

- ▶ MiSeq を使用する場合は、『**MiSeq System Guide**』（文書番号：15046563）を参照してください。
- ▶ MiniSeq システムを使用する場合は、『**MiniSeq System Guide**』（文書番号：1000000002695）を参照してください。
- ▶ サーベイランスを行う場合や、Local Run Manager を使用する場合以外は、マニュアルモードでシーケンスランのセットアップを行ってください。
 - ▶ Local Run Manager を使用する場合は、『**Local Run Manager Software Guide**』（文書番号：1000000111492）を参照してください。
- ▶ BaseSpace Sequence Hub アプリを使用する場合は、使用する装置の必要に応じてモニタリングとストレージを有効にしてください。
 - ▶ iSeq システムの場合は、システムの設定で、「**Run Analysis, Collaboration, and Storage**」を選択するか有効にしてください。
 - ▶ MiniSeq システムの場合は、「Configuration」オプションで「**Run Monitoring and Storage**」を選択してください。
- ▶ 「Read Type」に「**Paired End**」と入力します。
- ▶ Index 1 と Index 2 の値を「**10**」と入力します。

ILLUMINA COVIDSEQ TEST (RUO) のシーケンスランのセットアップ

ランのセットアップについては、各使用システムの文書および以下の情報を参照してください。

リード長に関するガイダンスについては、イルミナのテクニカルノート「**Sequencing Guidelines for COVID-19 Surveillance Using the Illumina COVIDSeq Test (RUO Version)**」を参照してください。

- 1 NextSeq 500/550 または NexSeq 550Dx を使用する場合は、『**NextSeq 500 System Guide**』（文書番号：15046563）、『**NextSeq 550 System Guide**』（文書番号：15069765）、『**NextSeq 550Dx Instrument Reference Guide**』（文書番号：1000000009513）のいずれかを参照してください。
 - ▶ NextSeq Control Software (NCS) の v4.0 を使用します。
 - ▶ NextSeq 550Dx を使用する場合は、RUO モードを使用します。
 - ▶ サーベイランスを行う場合や、Local Run Manager を使用する場合以外は、マニュアルモードでシーケンスランのセットアップを行ってください。
 - ▶ Local Run Manager を使用する場合は、『**Local Run Manager Software Guide**』（文書番号：1000000111492）を参照してください。
 - ▶ BaseSpace Sequence Hub アプリを使用する場合は、「Configuration」オプションで、「**Run Monitoring and Storage**」を選択します。
 - ▶ 「Read Type」に「**Single-Read**」と入力します。サーベイランスの場合は、「Read Type」に「**Paired End**」と入力します。
 - ▶ Index 1 と Index 2 の値を「**10**」と入力します。
- 2 NovaSeq 6000 システムを使用する場合は、シーケンスに関する手順として『**NovaSeq 6000 Sequencing System Guide**』（文書番号：1000000019358）を参照してください。
 - ▶ NovaSeq Control Software (NVCS) の v1.7 を使用します。
 - ▶ BaseSpace Sequence Hub アプリを使用する場合は、「Configuration」オプションで、「**Run Monitoring and Storage**」を選択します。
 - ▶ Index 1 と Index 2 の値を「**10**」と入力します。

- 3 NextSeq 2000 を使用する場合は、『**NextSeq 1000/2000 Sequencing System Guide**』（文書番号：**1000000109376**）を参照してください。
 - ▶ BaseSpace Sequence Hub でランを作成する場合は、必ず以下のことを行ってください。
 - ▶ 解析場所は「**BaseSpace**」を選択します。
 - ▶ 解析の種類は「**Illumina DRAGEN COVIDSeq Test**」を選択します。
 - ▶ 解析の種類として Illumina DRAGEN COVIDSeq Test が表示されない場合は、Illumina Technical Support に連絡してください。
 - ▶ 以下の [NextSeq 2000 を使用したときの BaseSpace Sequence Hub 上の解析設定](#) セクションに記載されているとおり、解析のセットアップを行います。
 - ▶ NextSeq 1000/2000 Control Software の v1.2 を使用します。
 - ▶ 「Cloud」モードを有効にするには、「Settings」画面で「**Online Run Setup**」と「**Proactive, Run Monitoring, and Storage**」が選択されていることを確認します。

NextSeq 2000 を使用したときの BaseSpace Sequence Hub 上の解析設定

NextSeq 2000 システムの装置を使用する場合は、以下のステップに従って、BaseSpace Sequence Hub での Illumina DRAGEN COVIDSeq Test 解析の設定を行ってください。

- 1 高速モードを有効にするには、「Fast Mode」オプションで「**True**」と設定します。
高速モードでは、アライメント、バリエーションコール、コンセンサスシーケンス FASTA の作成をオフにして、結果を解析します。
- 2 ランログ、QC メトリクスファイル、その他の種類のファイルを除外するには、「Metrics and Logs Datasets」オプションで「**False**」と設定します。
このオプションを「False」と設定すると、解析速度が上がりますが、Logs_Intermediates_Lane_* フォルダは作成されません。
- 3 サンプル ID またはウェルの位置を用いて、陽性コントロールとテンプレートなしのコントロールの場所を特定します。
- 4 各インデックスセットごとに、陽性コントロールとテンプレートなしのコントロールを入力します。
 - ▶ ライブラリー調製時にインデックスセットを使用した場合は、陽性コントロールおよびテンプレートなしのコントロールのサンプル ID またはウェルの位置を入力します。
 - ▶ インデックスセットを使用しなかった場合は、NA と入力します。
- 5 「**Submit Run**」を選択します。

解析ソフトウェア

シーケンスが完了すると、インストールされているパイプラインソフトウェアを使用して解析がローカルにて開始されるか、BaseSpace Sequence Hub にて開始されます。

- ▶ SARS-CoV-2 RNA の定性的検出用のローカル解析では、Illumina DRAGEN COVIDSeq Test Pipeline を使用します。
- ▶ サーベイランス用のローカル解析では、Illumina DRAGEN COVID Pipeline with COVID Lineage Tools を使用します。
- ▶ BaseSpace Sequence Hub でのクラウドベースの解析では、SARS-CoV-2 の定性的検出用に Illumina DRAGEN COVIDSeq Test を使用し、サーベイランス用には DRAGEN COVID Lineage アプリを使用します。

詳細情報については、以下のリソースのいずれかを参照してください。

- ▶ 『**Illumina DRAGEN COVIDSeq Test Pipeline Software Guide**』（文書番号：**1000000128122**）
- ▶ 『**Illumina DRAGEN COVIDSeq Test App Guide**』（文書番号：**1000000129548**）
- ▶ 『**Illumina DRAGEN COVID Pipeline Software Guide**』（文書番号：**1000000158680**）

付録 A サポート情報

Illumina COVIDSeq Assay Kit (96 サンプル) の内容.....	17
Illumina COVIDSeq Test (RUO) Kit (3072 Samples) の内容	18
消耗品および機器.....	20

Illumina COVIDSeq Assay Kit (96 サンプル) の内容

ロースループットシーケンス用の Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) には 4 種類のキットオプションがあります。キットオプションごとに、異なる IDT for Illumina-PCR Indexes のセットが含まれています。

Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) には、COVIDSeq Positive Control は含まれていませんが、別途購入することが可能です。COVIDSeq Positive Control for 96 Samples (オプション) (18 ページ) を参照してください。

キット	カタログ番号
Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples)、Index Set 1 あり	20049393
Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples)、Index Set 2 あり	20051772

Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples)

正常に機能するよう、納品後は直ちに指定温度で保管してください。

表 4 Illumina COVIDSeq Assay Box 1 – 96 Samples、製品番号 20051272

数量	ラベルに記載の分量 (mL)	試薬	詳細	保管
1	15	ITB	Illumina Tune Beads	室温、ポスト PCR 環境
1	2	ST2	Stop Tagment Buffer 2	室温、ポスト PCR 環境

表 5 Illumina COVIDSeq Assay Box 2 – 96 サンプル、製品番号 20051273

数量	ラベルに記載の分量 (mL)	試薬	詳細	保管
2	2	EBLTS	Enrichment BLT	2°C～8°C、ポスト PCR 環境
3	2	ELB	Elution Buffer	2°C～8°C、プレ PCR 環境
2	2	RSB	Resuspension Buffer	2°C～8°C、ポスト PCR 環境
1	50	TWB	Tagmentation Wash Buffer	2°C～8°C、ポスト PCR 環境

表 6 Illumina COVIDSeq Assay Box 3 – 96 サンプル、製品番号 20051274

数量	ラベルに記載の分量 (mL)	試薬	詳細	保管
1	2	CPP1	COVIDSeq Primer Pool 1	-25°C～ -15°C、プレ PCR 環境
1	2	CPP2	COVIDSeq Primer Pool 2	-25°C～ -15°C、プレ PCR 環境
4	0.5	EPH3	Elution Prime Fragment 3HC Mix	-25°C～ -15°C、プレ PCR 環境
3	2	EPM	Enhanced PCR Mix	-25°C～ -15°C、プレ PCR 環境
3	0.5	FSM	First Strand Mix	-25°C～ -15°C、プレ PCR 環境
4	2	IPM	Illumina PCR Mix	-25°C～ -15°C、プレ PCR 環境
2	0.5	RVT	Reverse Transcriptase	-25°C～ -15°C、プレ PCR 環境
6	0.5	TB1	Tagmentation Buffer 1	-25°C～ -15°C、ポスト PCR 環境

表 7 Illumina COVIDSeq Assay Box 4 – 96 Samples, Indexes

数量	詳細	保管
8	以下のセットのいずれか 1 個： <ul style="list-style-type: none"> • IDT for Illumina- PCR Indexes Set 1 (96 Indexes) • IDT for Illumina- PCR Indexes Set 2 (96 Indexes) • IDT for Illumina- PCR Indexes Set 3 (96 Indexes) • IDT for Illumina- PCR Indexes Set 4 (96 Indexes) 	-25°C～ -15°C

COVIDSeq Positive Control for 96 Samples (オプション)

Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) では、COVIDSeq Positive Control (CPC) はオプションです。Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) とは別売りです。CPC は、プレ PCR 環境にて、-85°C～ -65°C で保管してください。

数量	ラベルに記載の分量	試薬	製品番号
1	100 µL	COVIDSeq Positive Control	20051775

Illumina COVIDSeq Test (RUO) Kit (3072 Samples) の内容

ハイスループットシーケンス用の Illumina COVIDSeq Test (RUO) には、Illumina COVIDSeq Test (3072 Samples) と、IDT for Illumina-PCR Indexes 8 キットが必要です。

コンポーネント	キット	カタログ番号
ライブラリー調製	Illumina COVIDSeq Test (3072 Samples)	20043675
インデックス	IDT for Illumina-PCR Indexes Sets 1–4 (384 Indexes)	20043137

Illumina COVIDSeq Test (RUO)

正常に機能するよう、納品後は直ちに指定温度で保管してください。

表 8 Illumina COVIDSeq Test Box 1 – 3072 Samples、製品番号 20044405

数量	ラベルに記載の分量 (mL)	試薬	詳細	保管
1	233	ITB	Illumina Tune Beads	室温
1	56	ST2 HT	Stop Tagment Buffer 2 HT	室温、ポスト PCR 環境

表 9 Illumina COVIDSeq Test Box 2 – 3072 Samples、製品番号 20044406

数量	ラベルに記載の分量 (mL)	試薬	詳細	保管
2	6.1	EBLTS HT	Enrichment BLT HT	2°C～8°C、ポスト PCR 環境
1	114	ELB HT	Elution Buffer HT	2°C～8°C、プレ PCR 環境
1	10	RSB HT	Resuspension Buffer HT	2°C～8°C、ポスト PCR 環境
1	845	TWB HT	Tagmentation Wash Buffer HT	2°C～8°C、ポスト PCR 環境

表 10 Illumina COVIDSeq Test Box 3 – 3072 Samples、製品番号 20044407

数量	ラベルに記載の分量 (mL)	試薬	詳細	保管
1	14.4	CPP1 HT	COVIDSeq Primer Pool 1 HT	-25°C～-15°C、プレ PCR 環境
1	14.4	CPP2 HT	COVIDSeq Primer Pool 2 HT	-25°C～-15°C、プレ PCR 環境
1	45	EPH3 HT	Elution Prime Fragment 3HC Mix HT	-25°C～-15°C、プレ PCR 環境
1	79	EPM HT	Enhanced PCR Mix HT	-25°C～-15°C、プレ PCR 環境
1	41	FSM HT	First Strand Mix HT	-25°C～-15°C、プレ PCR 環境
1	100	IPM HT	Illumina PCR Mix HT	-25°C～-15°C、プレ PCR 環境
1	4.6	RVT HT	Reverse Transcriptase HT	-25°C～-15°C、プレ PCR 環境
1	38	TB1 HT	Tagmentation Buffer 1 HT	-25°C～-15°C、ポスト PCR 環境

表 11 Illumina COVIDSeq Positive Control HT、製品番号 20043401

数量	ラベルに記載の分量	試薬	詳細	保管
1	100 µL	COVIDSeq Positive Control HT	COVIDSeq Positive Control HT	-85°C～-65°C、プレ PCR 環境

IDT for Illumina- PCR Indexes (-25°C～ -15°Cで保管)

Illumina COVIDSeq Test (RUO) には、IDT for Illumina-PCR Indexes 8 キット (384 Indexes) が必要です。

数量	詳細	製品番号
8	IDT for Illumina- PCR Indexes Set 1 (96 Indexes)	20043132
8	IDT for Illumina- PCR Indexes Set 2 (96 Indexes)	20043133
8	IDT for Illumina- PCR Indexes Set 3 (96 Indexes)	20043134
8	IDT for Illumina- PCR Indexes Set 4 (96 Indexes)	20043135

消耗品および機器

Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) 本プロトコールを開始する前に、使用キット (Illumina COVIDSeq Test (RUO) または Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples)) および IDT for Illumina-PCR Indexes に加えて、必要な消耗品および機器が揃っていることを確認してください。

消耗品

消耗品	サプライヤー
10 µL ピペットチップ	一般的なラボ用品サプライヤー
20 µL ピペットチップ	一般的なラボ用品サプライヤー
200 µL ピペットチップ	一般的なラボ用品サプライヤー
1000 µL ピペットチップ	一般的なラボ用品サプライヤー
Hard-Shell 96-Well PCR Plates	Bio-Rad 社、カタログ番号 HSP-9601 またはこれに相当するもの
96 ディープウェルプレート、2000 µL	Eppendorf 社、カタログ番号 951033707
1.7 mL LoBind マイクロチューブ	Eppendorf 社、カタログ番号 022431021
5 mL LoBind マイクロチューブ	Eppendorf 社、カタログ番号 0030122348
15 mL チューブ	一般的なラボ用品サプライヤー
ラボ用ティッシュ、リントフリー	VWR 社、カタログ番号 21905-026 またはこれに相当するもの
リントフリーアルコール綿	一般的なラボ用品サプライヤー
Microseal 'B' 粘着シール	Bio-Rad 社、製品番号 MSB-1001
RNase/DNase-free Disposable Pipetting Reservoirs	VWR 社、製品番号 89094-658
使用する抽出法に応じて、以下のうちのいずれか 1 つ： <ul style="list-style-type: none"> 13 QIAamp Viral RNA Mini Kit 8 Quick DNA/RNA Viral MagBead 	<ul style="list-style-type: none"> Qiagen 社、カタログ番号 52906 Zymo Research 社、カタログ番号 R2141
Qubit dsDNA HS Assay Kit	キットのサイズに応じて、以下のうちのいずれか 1 つ： <ul style="list-style-type: none"> ThermoFisher Scientific 社、製品番号 Q32851 ThermoFisher Scientific 社、製品番号 Q32854
Qubit Assay Tubes	ThermoFisher Scientific 社、カタログ番号 Q32856
iSeq 100 システムを使用する場合： <ul style="list-style-type: none"> iSeq 100 i1 Reagent v2 (300 サイクル) 	<ul style="list-style-type: none"> Illumina 社、カタログ番号 20031371
MiSeq システム v2 試薬キットを使用する場合： <ul style="list-style-type: none"> MiSeq Reagent Kit v2 (300 サイクル) 	<ul style="list-style-type: none"> Illumina 社、カタログ番号 MS-102-2002
MiSeq システム v3 試薬キットを使用する場合： <ul style="list-style-type: none"> MiSeq Reagent Kit v3 (600 サイクル) 	<ul style="list-style-type: none"> Illumina 社、カタログ番号 MS-102-3003
MiniSeq システムを使用する場合： <ul style="list-style-type: none"> MiniSeq High Output Reagent Kit (300 サイクル) 	<ul style="list-style-type: none"> Illumina 社、カタログ番号 FC-420-1003

消耗品	サプライヤー
NovaSeq 6000 シーケンスシステム S4 フローセルを使用する場合: <ul style="list-style-type: none"> NovaSeq 6000 シーケンスシステム S4 Reagent Kit v1.5 (35 サイクル) × 2 NovaSeq Xp 4-Lane Kit v1.5 × 2 	<ul style="list-style-type: none"> Illumina 社、カタログ番号 20044417 Illumina 社、カタログ番号 20043131
NovaSeq 6000 シーケンスシステム SP フローセルを使用する場合: <ul style="list-style-type: none"> NovaSeq 6000 シーケンスシステム SP Reagent Kit v1.5 (100 サイクル) × 4 NovaSeq Xp 2-Lane Kit v1.5 × 4 	<ul style="list-style-type: none"> Illumina 社、カタログ番号 20028401 Illumina 社、カタログ番号 20043130
NextSeq 500/550 システムまたは NextSeq 550Dx システムの装置を使用する場合: <ul style="list-style-type: none"> NextSeq 500/550 High Output Kit v2.5 (75 サイクル) × 8 	<ul style="list-style-type: none"> Illumina 社、カタログ番号 20024906
NextSeq 2000 システムを使用する場合: <ul style="list-style-type: none"> NextSeq 1000/2000 P2 Reagents (100 サイクル) × 8 	<ul style="list-style-type: none"> Illumina 社、カタログ番号 20046811

必要な機器（提供なし）

機器	サプライヤー
10 µL シングルチャンネルピペット	一般的なラボ用品サプライヤー
20 µL シングルチャンネルピペット	一般的なラボ用品サプライヤー
200 µL シングルチャンネルピペット	一般的なラボ用品サプライヤー
1000 µL シングルチャンネルピペット	一般的なラボ用品サプライヤー
10 µL 8 チャンネルピペット	一般的なラボ用品サプライヤー
20 µL 8 チャンネルピペット	一般的なラボ用品サプライヤー
200 µL 8 チャンネルピペット	一般的なラボ用品サプライヤー
1000 µL 8 チャンネルピペット	一般的なラボ用品サプライヤー
20 µL 12 チャンネルピペット	一般的なラボ用品サプライヤー
200 µL 12 チャンネルピペット	一般的なラボ用品サプライヤー
10 mL セロロジカルピペット	一般的なラボ用品サプライヤー
25 mL セロロジカルピペット	一般的なラボ用品サプライヤー
50 mL セロロジカルピペット	一般的なラボ用品サプライヤー
BioShake iQ	QInstruments 社、製品番号 1808-0506
DRAGEN Bio-IT Platform or BaseSpace Sequence Hub	Illumina
以下のうち、いずれか 1 つの抽出法に必要な機器: <ul style="list-style-type: none"> Quick-DNA/RNA Viral MagBead の機器 QIAamp Viral RNA Mini Kit の機器 	<ul style="list-style-type: none"> Quick-DNA/RNA Viral MagBead Instruction Manual (Zymo Research 社) 参照 QIAamp Viral RNA Mini Handbook (文書番号: HB-0354-006、Qiagen 社) 参照
冷凍庫、-25°C ~ -15°C	一般的なラボ用品サプライヤー
冷凍庫、-85°C ~ -65°C	一般的なラボ用品サプライヤー
Magnetic Stand-96	Thermo Fisher Scientific 社、カタログ番号 AM10027
以下のうち、いずれか 1 つの磁気スタンド: <ul style="list-style-type: none"> Dynabeads MPC-S (Magnetic Particle Concentrator) MagnaRack Magnetic Separation Rack 	<ul style="list-style-type: none"> Thermo Fisher Scientific 社、カタログ番号 A13346 Thermo Fisher Scientific 社、カタログ番号 CS15000
微量遠心機	一般的なラボ用品サプライヤー
マイクロプレート遠心機	一般的なラボ用品サプライヤー

機器	サプライヤー
以下のうち、いずれか 1 つのシーケンスシステム： <ul style="list-style-type: none"> • iSeq 100 システム • MiSeq システム • MiniSeq システム • NextSeq 500 システム • NextSeq 550 システム • NextSeq 550Dx システム • NextSeq 2000 システム • NovaSeq 6000 システム 	Illumina
NovaSeq Xp Flow Cell Dock	Illumina、番号 20021663
電動ピペッター	一般的なラボ用品サプライヤー
Qubit Fluorometer 3.0	Thermo Fisher 社、カタログ番号 Q33216、Q33217、Q33218 のいずれか
冷蔵庫、2°C～8°C	一般的なラボ用品サプライヤー
以下のうち、いずれか 1 つのサーマルサイクラー： <ul style="list-style-type: none"> • C1000 Touch™ Thermal Cycler with 96-Well Fast Reaction Module • C1000 Touch™ Thermal Cycler with 96-Deep Well Reaction Module • Veriti 96-well Thermal Cycler • GeneAmp PCR システム 9700 Fast Thermal Cycler • 最低限の仕様要件を満たしているサーマルサイクラー。サーマルサイクラーの推奨仕様 (22 ページ) を参照してください。 	<ul style="list-style-type: none"> • Bio-Rad 社、製品番号 1851196 • Bio-Rad 社、製品番号 1851197 • Thermo Fisher 社、カタログ番号 4375786 • Thermo Fisher 社、カタログ番号 4339386
シーリングウェッジまたはローラー	一般的なラボ用品サプライヤー
ボルテックス	一般的なラボ用品サプライヤー

サーマルサイクラーの推奨仕様

以下は、Illumina COVIDSeq Test (RUO) または the Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) で使用するサーマルサイクラーに推奨される最低限の要件です。使用する PCR プレートとサーマルサイクラーの互換性も必ず確認してください。

仕様	最低要件
リッドタイプ	プレヒート可
温度範囲	4°C～99°C
フォーマット	0.2 mL チューブ、96 ウェルプレート
温度精度	± 0.25°C (35°C～99.9°C)
温度均一性	目標温度に到達後 30 秒以内で、ウェル間で± 0.5°C
最高ランプ速度	1.5°C以上
サンプルのランプ速度	± 1.25°C

付録 B COVIDSeq Positive Control の調製

COVIDSeq Positive Control の調製 24

COVIDSeq Positive Control の調製

本手順では、COVIDSeq Positive Control (CPC) を希釈し、Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) や Illumina COVIDSeq Test (RUO) キットと使用できるように調製します。

消耗品

- ▶ 1.7 mL LoBind tube
- ▶ 5 mL LoBind tube
- ▶ COVIDSeq Positive Control

試薬について

- ▶ CPC を低吸着チューブに分注してください。-85°C～-65°Cで保管してください。
- ▶ 使用前に毎回ボルテックスにかけてください。

Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) のための調製

以下に、Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) キットのための手順を記載します。Illumina COVIDSeq Test (RUO) キットの場合は、[Illumina COVIDSeq Test \(RUO\) のための調製 \(25 ページ\)](#) を参照してください。

Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) では COVIDSeq Positive Control (CPC) の使用が推奨されますが、必須ではありません。

- 1 次の消耗品を準備します。

試薬	保管	手順
ELB	2°C～8°C	室温で融解し、転倒混和します。使用時まで氷上保存します。
CPC	-85°C～-65°C	μL 当たり 5 コピーを次のとおり希釈します。希釈後の陽性コントロールは氷上保存します。

- 2 CPC を次のとおり希釈します。
 - a 1.7 mL チューブに希釈 1 とラベルします。
 - b チューブに以下の分量を以下の記載順に添加します。
 - ▶ CPC (1 μL)
 - ▶ ELB (99 μL)これらの分量で、1 μL 当たり 10,000 コピーとなります。
 - c パルスボルテックスして混合します。

- 3 2 回目の CPC 希釈を次のとおり行います。
 - a 1.7 mL チューブに希釈 2 とラベルします。
 - b チューブに以下の分量を**以下の記載順**に添加します。
 - ▶ 希釈 1 (1 μ L)
 - ▶ ELB (99 μ L)
 これらの分量で、1 μ L 当たり 100 コピーとなります。
 - c パルスボルテックスして混合します。

Illumina COVIDSeq Test (RUO) のための調製

以下に、Illumina COVIDSeq Test (RUO) キットのための調製順を記載します。Illumina COVIDSeq Assay (96 Samples) キットの場合は、[Illumina COVIDSeq Assay \(96 Samples\) のための調製 \(24 ページ\)](#) を参照してください。

Illumina COVIDSeq Test (RUO) では、COVIDSeq Positive Control (CPC) HT の使用が検出用途には必須であり、サーベイランス用途では推奨されています。

- 1 次の消耗品を準備します。

試薬	保管	手順
ELB HT	2°C~8°C	室温で融解し、転倒混和します。使用時まで氷上保存します。
CPC HT	-85°C~-65°C	μ L 当たり 5 コピーを次のとおり希釈します。希釈後の陽性コントロールは氷上保存します。

- 2 CPC HT を次のとおり希釈します。
 - a 1.7 mL チューブに希釈 1 とラベルします。
 - b チューブに以下の分量を**以下の記載順**に添加します。
 - ▶ CPC HT (5 μ L)
 - ▶ ELB HT (495 μ L)
 これらの分量で、1 μ L 当たり 10,000 コピーとなります。
 - c パルスボルテックスして混合します。
- 3 2 回目の CPC HT 希釈を次のとおり行います。
 - a 1.7 mL チューブに希釈 2 とラベルします。
 - b チューブに以下の分量を**以下の記載順**に添加します。
 - ▶ 希釈 1 (5 μ L)
 - ▶ ELB HT (495 μ L)
 これらの分量で、1 μ L 当たり 100 コピーとなります。
 - c パルスボルテックスして混合します。
- 4 3 回目の CPC HT 希釈を次のとおり行います。
 - a 5 mL チューブに希釈 3 とラベルします。
 - b チューブに以下の分量を**以下の記載順**に添加します。
 - ▶ 希釈 2 (200 μ L)
 - ▶ ELB HT (3.8 mL)
 これらの分量で、1 μ L 当たり 5 コピーとなります。
 - c パルスボルテックスして混合します。

付録 C Illumina DRAGEN COVIDSeq Test Pipeline のサンプルシート

サンプルシートの要件 26

サンプルシートの要件

Illumina DRAGEN COVIDSeq Test Pipeline には、ラン解析ごとにサンプルシートが必要となります。この要件は、NextSeq 2000 システムで解析に BaseSpace Sequense Hub の Illumina DRAGEN COVIDSeq Test を使う場合には適用されません。

インストーラーパッケージに含まれている、使用システムに応じた samplesheet.csv ファイルを使用してください。これらのファイルは、Illumina COVIDSeq Research Use Only (RUO) Kits のサポートサイトにて、サンプルシートを作成するためのテンプレートとして入手できます。

使用するサンプルシートが以下の要件を満たしていることを確認してください。

- 1 サンプルシートを、SampleSheet.csv という名前で、シーケンスランフォルダーに保存します。
- 2 [Settings] 画面で、「AdapterRead1」パラメータとして以下の値を入力します。

```
CTGTCTCTTATACACATCT
```

- 3 [Data] セクションで、以下の必須パラメータを入力します。

サンプル間に空欄がないか確認してください。

項目	詳細	要件
Sample_ID	テストレポートにおいてサンプルを特定するために使用される ID で、出力ファイル名に含まれています。	Sample_ID は、大文字と小文字は区別されません。Sample_ID に以下の情報が含まれていることを確認してください。 <ul style="list-style-type: none">• ラン内で重複がないこと。• 100 字以下で、スペースが含まれていないこと。• 英数字、アンダーバー、ダッシュのみであること。アンダーバーやダッシュの前後に英数字を追加する必要があります。
Index_ID	サンプルに関連付けられた IDT for Illumina-PCR Indexes のインデックス名です。	インデックス名やその他の詳細については、『 Illumina Adapter Sequences 』（文書番号：100000002694）を参照してください。インデックス名は、各フローセルレーンごとに固有である必要があります。Index_ID が指定されていない場合は、「Index Set」欄には「Index」および「Index2」の値が入力されます。これらの3つの項目を指定する場合は、インデックス名と関連配列が一致している必要があります。
Index	IDT for Illumina-PCR Indexes i7 のインデックスサンプルシートの塩基です。	使用システムに応じたサンプルシートの塩基やその他の詳細については、『 Illumina Adapter Sequences 』（文書番号：100000002694）を参照してください。Index_ID が指定されている場合は、Index は不要です。
Index2	IDT for Illumina-PCR Indexes i5 のインデックスサンプルシートの塩基です。	使用システムに応じたサンプルシートの塩基やその他の詳細については、『 Illumina Adapter Sequences 』（文書番号：100000002694）を参照してください。Index_ID が指定されている場合は、Index2 は不要です。
Lane	サンプルのフローセルレーン。	NovaSeq 6000 システムを使用する場合は、1、2、3、4 のうち、いずれか 1 つの値を入力します。NextSeq 500/550 システム、NextSeq 500Dx システム、NextSeq 2000 システムのいずれかを使用する場合は、この項目は含まれません。

項目	詳細	要件
Sample_Type	各サンプルの種類です。	以下のうち、いずれか1つの値を、大文字と小文字を区別して入力します： PatientSample、NTC、PositiveControl。NovaSeq 6000 システムを使用する場合は、サンプルシート中のインデックスセットとレーンの各組合せに、NTC サンプルが1個と PositiveControl サンプルが1個なければなりません。NextSeq 500/550 システム、NextSeq 500Dx システム、NextSeq 2000 システムのいずれかを使用する場合は、サンプルシート中のインデックスセットの各組合せに、NTC サンプルが1個と PositiveControl サンプルが1個なければなりません

- 4 **【オプション】** 追加のデータパラメータ (Sample_Name など) を入力します。
- 5 サンプルシートを保存します。

テクニカルサポート

技術的な支援については、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
メールアドレス: techsupport@illumina.com

イルミナテクニカルサポート電話番号

地域	フリーダイヤル	国外
オーストラリア	+61 1800 775 688	
オーストリア	+43 800 006249	+43 1 9286540
ベルギー	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
カナダ	+1 800 809 4566	
中国		+86 400 066 5835
デンマーク	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
フィンランド	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
フランス	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
ドイツ	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
香港 (中国)	+852 800 960 230	
インド	+91 8006500375	
インドネシア		0078036510048
アイルランド	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
イタリア	+39 800 985513	+39 236003759
日本	+81 0800 111 5011	
マレーシア	+60 1800 80 6789	
オランダ	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
ニュージーランド	+64 800 451 650	
ノルウェー	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
フィリピン	+63 180016510798	
シンガポール	1 800 5792 745	
韓国	+82 80 234 5300	
スペイン	+34 800 300 143	+34 911 899 417
スウェーデン	+46 2 00883979	+46 8 50619671
スイス	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
台湾 (中国)	+886 8 06651752	
タイ	+66 1800 011 304	
英国	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197
米国	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
ベトナム	+84 1206 5263	

安全データシート (SDS) : 当社のウェブサイト (support.illumina.com/sds.html) から入手できます。

製品マニュアル : 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。診断目的での使用はできません。

© 2021 Illumina, Inc. All rights reserved.

illumina[®]