

iSeq™ 100-Sequenzierungssystem

Das kleinste und günstigste Illumina-Sequenzierungssystem ermöglicht praktisch allen Labors schnelle und effiziente Analysen mit niedrigem Durchsatz.

Vorteile

- Schnelle Datengenerierung**
 Führen Sie kleinere Projekte auf einem speziellen Gerät für niedrigen Durchsatz schneller durch.
- Geeignete Bibliotheksqualität und Pilottests**
 Testen Sie die Bibliotheksqualität vor größeren Läufen, führen Sie Pilotstudien durch und generieren Sie Daten für Zulassungsanträge.
- Unabhängiger, praktischer Betrieb**
 Profitieren Sie von vollständiger Kontrolle über den gesamten Sequenzierungsprozess und führen Sie Sequenzierungen selbst durch, statt diese an Dritte abzugeben.
- Hohe analytische Sensitivität und herausragende Datengenauigkeit**
 Nutzen Sie die höhere analytische Sensitivität zur Bestimmung seltener Varianten und Transkripte im Vergleich zur qPCR- oder Sanger-Sequenzierung.^{1,2}



Abbildung 1: Das iSeq 100-System: Mit einer Kantenlänge von knapp über 30 cm ist das iSeq 100-System das kompakteste NGS-Tischsystem von Illumina.

Einleitung

Es ist Zeit für die neueste NGS-Innovation. Das kompakte Illumina iSeq 100-System (Abbildung 1) vereint CMOS-Technologie (Complementary Metal-Oxide-Semiconductor) mit der bewährten Zuverlässigkeit der SBS-Chemie (Sequencing By Synthesis) von Illumina und liefert so schnell besonders genaue Daten. Das iSeq 100-System generiert pro Lauf in 17,5 Stunden 1,2 Gb Daten und zeichnet sich durch die hohe Auflösung und eine ebenso hohe analytische Sensitivität aus, die zur Bestimmung von seltenen Varianten und Transkripten erforderlich sind.^{1,2}

Das iSeq 100-System bietet große Vorteile bei kleinem Platzbedarf. Kleinere Läufe lassen sich schnell und kostengünstig durchführen, ohne dass hierfür größere Systeme eingesetzt werden müssen. Mit einem iSeq 100-System im

Labor können Forscher Läufe ganz nach Bedarf durchführen, ohne Aufträge an externe Stellen abzugeben oder warten zu müssen, bis optimale Chargen für Systeme mit höherem Durchsatz zusammenkommen. Außerdem behalten Forscher die Kontrolle über den kompletten Sequenzierungsprozess, wodurch die Integrität der Proben sowie der Ergebnisse der Datenanalyse gewahrt bleibt. Das iSeq 100-System stellt mit seinem für praktisch alle Labors attraktiven Preis eine kostengünstige Lösung für unabhängige NGS in kleinem Maßstab dar.

Optimierter Workflow mit drei Schritten

Das iSeq 100-System ist Teil eines optimierten Workflows mit den drei Schritten Bibliotheksvorbereitung, Sequenzierung und Datenanalyse (Abbildung 2).



Abbildung 2: Der Workflow des iSeq 100-Systems: Das iSeq 100-System ist Teil eines optimierten Workflows von der DNA bis zu den Daten.

Tabelle 1: Leistungsparameter des iSeq 100-Systems^a

Laufkonfiguration	Reads (nach Filterung)/Lauf	Ausgabe	Qualitäts-Scores ^b	Laufzeit ^c
1 × 36 bp	4 Mio.	144 Mb	> 85 %	9 Stunden
1 × 50 bp	4 Mio.	200 Mb	> 85 %	9 Stunden
1 × 75 bp	4 Mio.	300 Mb	> 80 %	10 Stunden
2 × 75 bp	4 Mio.	600 Mb	> 80 %	13 Stunden
2 × 150 bp	4 Mio.	1,2 Gb	> 80 %	17,5 Stunden

a. Die Leistungsparameter können je nach Probenart, Probenqualität und Cluster nach Filterung variieren.

b. Der Prozentsatz der Basen > Q30 wird über den gesamten Lauf gemittelt.

c. Zeiten einschließlich Clusterbildung, Sequenzierung, Base-Calling und Qualitätsbewertung.



Abbildung 3: Angebot an NGS-Sequenzierungssystemen: Die NGS-Systeme von Illumina bieten Lösungen für ein breites Spektrum von Anwendungen, Probenarten und Durchsatzanforderungen. Alle Geräte liefern bei flexiblem Durchsatz und einfachen, optimierten Workflows extrem genaue Daten.

Schnelle Bibliotheksvorbereitung

Das iSeq 100-System ist kompatibel mit sämtlichen Bibliotheksvorbereitungskits von Illumina. Mit den Nextera™ XT- und Nextera DNA Flex-Bibliotheksvorbereitungskits können Forscher in drei bis vier Stunden multiplexierte Bibliotheken für die Sequenzierung von kleinen Genomen und die direkte Long-Range-Amplikonsequenzierung vorbereiten. Außerdem bietet die neue AmpliSeq™-Lösung zur gezielten Resequenzierung von Illumina professionell konzipierte Inhalte. Gezielte AmpliSeq-Panels sind als einsatzbereite Fix-Panels sowie als Community-Panels erhältlich oder können auf das jeweilige Forschungsziel abgestimmt werden. Je nach Kit benötigen die Bibliotheksvorbereitungskits von Illumina nur eine Zugabe von 1 ng DNA bzw. RNA (cDNA) und eignen sich für aus formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem Gewebe (FFPE) extrahierte DNA-Proben wie beispielsweise konserviertes Tumorgewebe.

Das iSeq 100-System ist kompatibel mit allen Illumina-Bibliotheksvorbereitungskits, was auch für geräteübergreifende Kompatibilität mit allen anderen Illumina-Geräten sorgt. Diese geräteübergreifende Kompatibilität ermöglicht Forschern den Vergleich von Daten zwischen Systemen oder den Umstieg auf größere Systeme wie MiniSeq™, MiSeq™ oder NextSeq™ (Abbildung 3).

Sequenzierung mit dem iSeq 100-System

Nach der Bibliotheksvorbereitung werden die Bibliotheken in eine vorgefüllte Reagenzienkartusche für das iSeq 100-System geladen. Mit einer vorgefüllten Kartusche bestehen die Schritte zum Start eines Laufs mit dem iSeq 100-System lediglich aus Auftauen, Laden und Starten. Der gesamte manuelle Aufwand beträgt lediglich fünf Minuten. Das iSeq 100-System vereint die Schritte zur Bibliotheksdenaturierung, die klonale Amplifikation, die Sequenzierung und die Datenanalyse in einem Gerät. Der Erwerb weiterer Geräte ist somit nicht länger erforderlich. Die intuitiv bedienbare Oberfläche führt den Anwender durch die einzelnen Schritte der Konfiguration und des Startens von Läufen. So können Forscher mit einem Minimum an Einweisung und Vorbereitungszeit unterschiedliche Sequenzierungsanwendungen durchführen.

Hohe analytische Sensitivität und herausragende Genauigkeit mit SBS-Chemie

Während der Sequenzierungsläufe nutzt das iSeq 100-System die bewährte SBS-Chemie von Illumina, die weltweit am häufigsten eingesetzte NGS-Chemie.³ Das iSeq 100-System liefert hochwertige Daten mit > 80 % der Basen bei oder über Q30* (Tabelle 1, Abbildung 4).

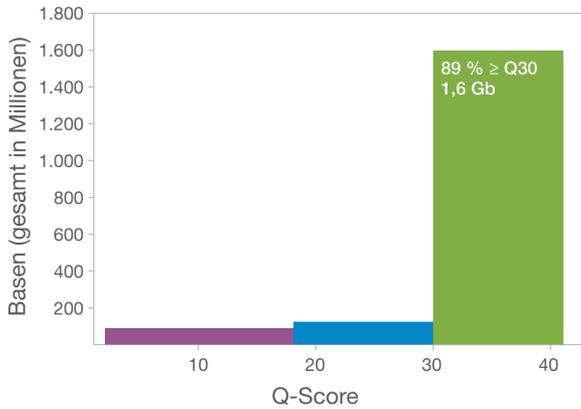


Abbildung 4: Die Qualitäts-Scores für das iSeq 100-System: Ein Qualitäts-Score (Q-Score) ist eine Prognose über die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers beim Base-Calling. Ein Q-Score von 30 (Q30) gilt allgemein als Indikator für hohe Datenqualität.⁴ Ein mikrobieller Pool-Lauf im iSeq 100-System mit 2 × 151 bp liefert für > 89 % der Basen ≥ Q30.

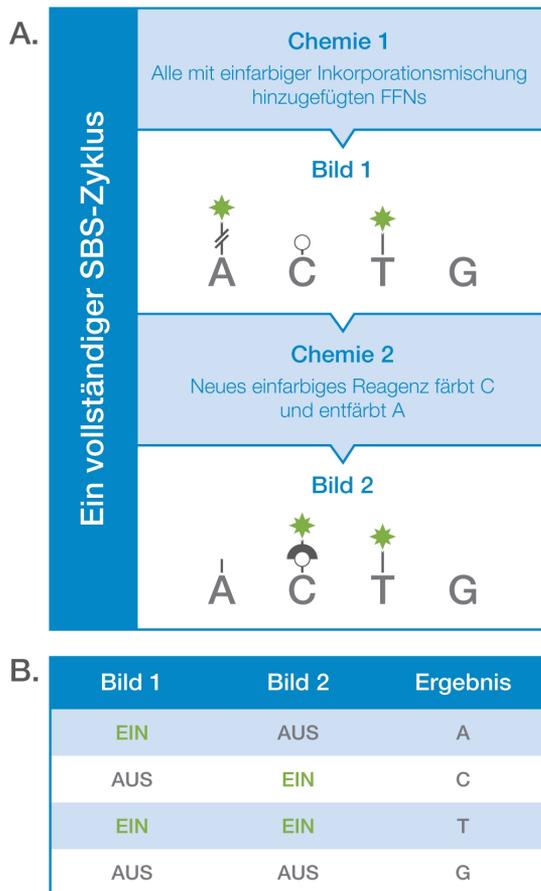


Abbildung 5: Einkanalige SBS-Chemie: (A) Bei der einkanaligen SBS-Chemie erfolgen je zwei Chemie- und Bildgebungsschritte pro Sequenzierungszyklus mit je nach Chemie-Schritt gekennzeichneten bzw. nicht gekennzeichneten Nucleotiden. (B) Der Base-Call wird anhand des Signalmusters zwischen den beiden Bildern bestimmt.

Diese reversible Terminatoren-basierte Methode erkennt einzelne Basen, während sie in wachsende DNA-Stränge eingebaut werden, und ermöglicht die parallele Sequenzierung von Millionen von DNA-Fragmenten. Die Illumina SBS-Chemie nutzt die natürliche Konkurrenz zwischen allen vier markierten Nucleotiden, was die Integrationsfehler reduziert und eine genauere Sequenzierung von repetitiven Regionen und Homopolymeren ermöglicht.⁵ Im Vergleich zu der auf der Kapillarelektrophorese basierenden Sanger-Sequenzierung kann mit der NGS in kürzerer Zeit und mit einem geringeren manuellen Aufwand ein breiteres Spektrum an DNA-Varianten, einschließlich niedrigfrequenter Varianten und benachbarter phasengesteuerter Varianten, erkannt werden.^{1,2}

Hochgradig innovative, einkanalige SBS-Chemie

Das iSeq 100-System vereint die bewährte Illumina-SBS mit CMOS-Technologie in einer einkanaligen Sequenzierungsschemie. Das iSeq 100-System nutzt eine strukturierte Fließzelle mit Nanowells über einem CMOS-Chip. Clustering und Sequenzierung erfolgen in den Nanowells, die sich direkt über den einzelnen CMOS-Fotodioden (Pixel) befinden. Die proprietäre ExAmp-Chemie sorgt dafür, dass sich in den Nanowells jeweils nur ein Cluster bildet. Die Verwendung eines in das Verbrauchsmaterial eingebetteten CMOS-Sensors bildet eine einfache und schnelle Erkennungsmethode.

Im Gegensatz zur vierkanaligen SBS-Chemie, bei der Sequenzierer für jedes der vier Nucleotide eine eigene Farbe, einen Chemie-Schritt und vier Bilder pro Sequenzierungszyklus verwenden, kommt das iSeq 100-System mit einer Farbe, zwei Chemieschritten und zwei Bildern pro Sequenzierungszyklus aus (Abbildung 5). Bei der einkanaligen Chemie erhält Adenin eine temporäre Kennzeichnung, die nur im ersten Bild erfolgt. Cytosin verfügt über eine Linkergruppe, die eine Kennzeichnung aufnehmen kann, und wird nur im zweiten Bild gekennzeichnet. Thymin erhält eine permanente fluoreszierende Kennzeichnung und ist daher in beiden Bildern gekennzeichnet. Guanin bleibt durchgehend dunkel (nicht gekennzeichnet). Nucleotide werden durch Analysen der unterschiedlichen Emissionsmuster der einzelnen Basen in den beiden Bildern bestimmt.

Einfache, flexible Datenanalyse

Das iSeq 100-System bietet unterschiedliche Datenanalyseoptionen, darunter geräteinterne und cloudbasierte Datenanalysen. Die Local Run Manager-Software, eine vollständig integrierte Analysesoftware auf dem Gerät, zeichnet sich durch ihre modulare Architektur aus, die aktuelle und künftige Analyseverfahren unterstützt. Die Local Run Manager-Software unterstützt die Planung von Sequenzierungsläufen, die Verfolgung von Bibliotheken und Läufen über Prüfpfade sowie die Integration mit den integrierten Datenanalysemodulen. Während Local Run Manager auf dem Gerätecomputer läuft, können Benutzer den Fortschritt der Ausführung überwachen und die Analyseergebnisse von anderen Computern, die mit demselben Netzwerk verbunden sind, einsehen.

Nach Abschluss eines Sequenzierungslaufs startet Local Run Manager automatisch die Datenanalyse mit einem der anwendungsspezifischen Analysemodule. Die Module können Alignment-Daten generieren, Einzelnukleotidvarianten (SNVs) und Strukturvarianten bestimmen, Expressionsanalysen und Analysen kleiner RNA-Moleküle durchführen und vieles mehr (Tabelle 2).

Wahlweise lassen sich Sequenzierungsdaten auch sofort in BaseSpace™ Sequence Hub, die Computerumgebung für Genomik von Illumina, übertragen und dort analysieren und speichern. Dank der branchenüblichen Datenformate hatten Drittanbieter die Möglichkeit, zahlreiche kostenpflichtige und Open-Source-Anwendungen zur nachgeschalteten Datenanalyse in BaseSpace Sequence Hub zu entwickeln. Diese Anwendungen enthalten Algorithmen für Gesamtgenom-, Exom- und Transkriptomdaten sowie Daten zur gezielten Resequenzierung für Alignment, Variantenerkennung, Notation, Visualisierung und vieles mehr.

Vielseitigkeit zur Unterstützung einer großen Anzahl an Anwendungen

Mit einer maximalen Ausgabe von 1,2 Gb ermöglicht das iSeq 100-System die schnelle multiplexierte Sequenzierung bei zahlreichen Anwendungen:

- Sequenzierung kleiner Gesamtgenome
- Gezielte Resequenzierung
 - Gezielte Resequenzierung mit AmpliSeq für Illumina
 - Long-Range-PCR
- *De-novo*-Sequenzierung
- Genome Editing-Validierung
- Metagenomik (16S rRNA-Sequenzierung)
- Gezielte mRNA-Sequenzierung
- Sequenzierung von kleiner RNA
- Assessment mehrerer Genome
- HLA-sequenzbasierte Typisierung (Human Leukocyte Antigen)

Tabelle 2: Beispielanwendungen und Laufkonfigurationen für das iSeq 100-System

Anwendung	Proben pro Lauf	Laufzeit
Kleine Genom-Sequenzierung 5–10 Mb Genome, 30x-Abdeckung 2 × 150 bp	1–8	17,5 Std.
Gezieltes Genexpressions-Profilung Bis zu 500 Targets 1 × 50 bp	1–48	9 Std.
Gezielte Amplikonsequenzierung Bis zu 3.000 Amplikons 2 × 150 bp	1–48	17,5 Std.

Bestellinformationen

System	Katalog-Nr.
iSeq 100-Sequenzierungssystem	20021532
Sequenzierungsreagenzien-Kits	Katalog-Nr.
iSeq 100 i1-Reagenz (Einzelkit für 300 Zyklen)	20021533
iSeq 100 i1-Reagenz (4er-Kit für 300 Zyklen)	20021534

Zusammenfassung

Beim iSeq 100-System handelt es sich zwar um das kleinste Gerät im Angebot von Illumina, dafür bietet es jedoch große Vorteile. Gegenüber größeren Sequenzierungssystemen oder Outsourcing ermöglicht das iSeq 100-System die schnellere und kostengünstigere Durchführung kleinerer Läufe ohne Abhängigkeit von Drittanbietern sowie die Kontrolle über den gesamten Sequenzierungsprozess. Zusätzlich bietet das iSeq 100-System als Teil einer umfassenden Lösung, die zahlreiche Bibliotheksvorbereitungskits, die Sequenzierung und benutzerfreundliche Datenanalysen umfasst, einen komplett unterstützten und integrierten Workflow. Mit seinem attraktiven Preis und dem geringen Platzbedarf ermöglicht das iSeq 100-System NGS in praktisch allen Labors.

Quellen

1. Precone V, Monaco VD, Esposito MV, et al. [Cracking the Code of Human Diseases Using Next-Generation Sequencing: Applications, Challenges, and Perspectives](#). *Biomed Res Int* 2015;161648.
2. Shokralla S, Porter TM, Gibson JF, et al. [Massively parallel multiplex DNA sequencing for specimen identification using an Illumina MiSeq platform](#). *Sci Rep* 2015;5:9687.
3. Archivierte Datenberechnungen. Illumina, Inc., 2015.
4. Illumina (2011) [Quality Scores for Next-Generation Sequencing](#). Aufgerufen am 1. Dezember 2017.
5. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry](#). *Nature* 2008;456(7218):53-59.

iSeq 100-System – Technische Daten

Parameter	Spezifikationen
Gerätekonfiguration	RFID-Tracking für Verbrauchsmaterialien
Gerätesteuerungscomputer (intern)^a	Basiseinheit: Celeron J1900, 2 GHz, Quad-Core-CPU Speicher: 8 GB RAM Festplatte: 240-GB-SSD Betriebssystem: Windows 10 IoT Enterprise
Betriebsbedingungen	Temperatur: 15 °C bis 30 °C (22,5 °C ± 7,5 °C) Luftfeuchtigkeit: 20–80 % relative Luftfeuchtigkeit (nicht kondensierend) Höhe: unter 2.000 m Luftqualität: Verschmutzungsgrad II Belüftung: bis zu 2.048 BTU/h bei 600 W Nur für den Innengebrauch
Leuchtdiode (LED)	520 nm, 460 nm; 1,5 W/cm ² auf dem Bildbereich
Abmessungen	BxTxH: 30,5 cm x 33 cm x 28 cm Gewicht: 16 kg Bruttogewicht: 21 kg
Leistungsbedarf	90–264 V AC, 47–63 Hz 80 W
RFID (Radio Frequency Identification)	Frequenz: 13,56 MHz Leistung: Versorgungsstrom 120 mA, RF-Ausgangsleistung 200 mW
Produktsicherheit und Compliance	NRTL-Zertifizierung IEC CE-Kennzeichnung gemäß 61010-1 FCC/IC-Zulassung

a. Änderungen der Computerspezifikationen vorbehalten.

Weitere Informationen

Weitere Informationen zum iSeq 100-System finden Sie unter www.illumina.com/iseq.

Weitere Informationen zur CMOS-Technologie und zur einkanaligen SBS finden Sie im [Technischen Hinweis zum Illumina CMOS-Chip und der einkanaligen SBS-Chemie](#) zum Herunterladen.

Mehr über die mikrobielle oder mitochondriale Sequenzierung mit dem iSeq 100-System erfahren Sie in den Anwendungshinweisen zur [mikrobiellen WGS mit dem iSeq 100-System](#) und zur [mitochondrialen DNA-Sequenzierung mit dem iSeq 100-System](#).

Antworten auf häufig gestellte Fragen finden Sie auf der [entsprechenden Seite zum iSeq 100-System](#).

Illumina, Inc. • Tel. USA (gebührenfrei) 1.800.809.4566 • Tel. außerhalb Nordamerikas +1.858.202.4566 • techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2018 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Eigentümer. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html. Pub.-Nr. 770-2017-020-A-DEU QB5473

