

Sistema de secuenciación iSeq™ 100

El sistema de secuenciación más pequeño y económico de Illumina ofrece una secuenciación de bajo rendimiento rápida y eficiente para prácticamente cualquier laboratorio.

Puntos destacados

- Generación rápida de datos**
 Lleve a cabo proyectos pequeños en un instrumento exclusivo para secuenciación de bajo rendimiento con tiempos de procesamiento rápidos
- Comprobaciones prácticas de la calidad de las bibliotecas y de viabilidad**
 Evalúe la calidad de las bibliotecas antes de realizar experimentos grandes, realice estudios preliminares o genere datos para la solicitud de financiación
- Operaciones cómodas e independientes**
 Dirija el proceso de secuenciación de principio a fin y mantenga un calendario de secuenciación independiente sin necesidad de recurrir a la contratación externa
- Sensibilidad analítica alta y precisión de datos excepcional**
 Saque provecho de una sensibilidad analítica mayor para detectar variantes y transcripciones infrecuentes en comparación con la qPCR o la secuenciación de Sanger^{1,2}

A pesar de que el sistema iSeq 100 ocupa muy poco espacio, las ventajas que ofrece son grandes. Posibilita la realización rápida y rentable de experimentos a pequeña escala sin la necesidad de utilizar sistemas más grandes. Con un sistema iSeq 100 en el



Figura 2: Sistema iSeq 100. Con un tamaño de tan solo 0,03 metros cúbicos, el sistema iSeq 100 ofrece la potencia de la NGS en el sistema de secuenciación de sobremesa más compacto de la gama de Illumina.

Introducción

Ya está aquí la innovación más reciente en secuenciación de última generación (NGS). El sistema compacto Illumina iSeq 100 (figura 1) combina la tecnología de semiconductor complementario de óxido de metal (CMOS) con la exactitud probada del proceso químico de secuenciación por síntesis (SBS, por sus siglas en inglés) de Illumina, con lo que consigue ofrecer datos de gran precisión y tiempos de procesamiento rápidos. El sistema iSeq 100 genera 1,2 Gb de datos por experimento en 17,5 horas y consigue la alta resolución y la sensibilidad analítica necesarias para la detección de variantes y transcripciones infrecuentes.^{1,2}

laboratorio, los investigadores pueden llevar a cabo experimentos cuando les convenga sin necesidad de esperar a reunir el tamaño óptimo de lote que exigen los sistemas de mayor rendimiento ni verse obligados a enviarlos a otro laboratorio. Asimismo, los investigadores pueden llevar el control del proceso de secuenciación de principio a fin, lo que les otorga una mayor confianza en la integridad de las muestras y en los resultados del análisis de los datos. Con un precio de venta que resulta asequible para prácticamente cualquier laboratorio, el sistema iSeq 100 representa una solución económica para llevar a cabo secuenciación de última generación de manera independiente y a pequeña escala.



Figura 1: Flujo de trabajo del sistema iSeq 100. El sistema iSeq 100 forma parte de un flujo de trabajo racionalizado de conversión de ADN en datos.

Tabla 1: Parámetros de rendimiento del sistema iSeq 100^a

Configuración del experimento	Lecturas (superación del filtro)/experimento	Resultado	Puntuaciones de calidad ^b	Duración del experimento ^c
1 × 36 pb	4 M	144 Mb	>85 %	9 horas
1 × 50 pb	4 M	200 Mb	>85 %	9 horas
1 × 75 pb	4 M	300 Mb	>80 %	10 horas
2 × 75 pb	4 M	600 Mb	>80 %	13 horas
2 × 150 pb	4 M	1,2 Gb	>80 %	17,5 horas

a. Los parámetros de rendimiento pueden variar en función del tipo y la calidad de la muestra y de los grupos que superen el filtro.

b. En todo el experimento se promedia un porcentaje de bases por encima de Q30.

c. Los tiempos incluyen la generación de grupos, la secuenciación, la llamada de bases y la puntuación de calidad.



Figura 3: Gama de sistemas de secuenciación NGS. Los sistemas de NGS de Illumina ofrecen soluciones para una gran variedad de aplicaciones, tipos de muestra y necesidades de rendimiento. Todos proporcionan datos de gran exactitud con rendimiento flexible y flujos de trabajo sencillo y racionalizado.

Flujo de trabajo racionalizado en tres pasos

El sistema iSeq 100 forma parte de un flujo de trabajo racionalizado en tres pasos constituido por la preparación de bibliotecas, la secuenciación y el análisis de los datos (figura 2).

Preparación rápida de bibliotecas

El sistema iSeq 100 es compatible con el paquete completo de kits de preparación de bibliotecas de Illumina. Con los kits de preparación de bibliotecas Nextera™ XT y Nextera DNA Flex, los investigadores pueden preparar bibliotecas multiplexadas en 3 o 4 horas para secuenciación de genomas de pequeño tamaño y secuenciación directa de rango largo de amplicones. Asimismo, la nueva solución de resecuenciación selectiva AmpliSeq™ for Illumina ofrece contenido diseñado por expertos. Los paneles selectivos de AmpliSeq están disponibles en paneles fijos listos para usar, en paneles diseñados de manera colectiva o pueden personalizarse para satisfacer las necesidades de investigación. Dependiendo del kit, los kits de preparación de bibliotecas de Illumina pueden necesitar tan solo 1 ng de aporte de ADN o ARN (ADNc) y tienen la flexibilidad de admitir ADN extraído de muestras fijadas en formol y embebidas en parafina (FFPE), tales como tejido tumoral con conservante.

Con el sistema iSeq 100 se puede emplear cualquier kit de preparación de bibliotecas de Illumina, lo que lo hace compatible con todos los instrumentos de Illumina. Esta compatibilidad cruzada

permite a los investigadores comparar datos entre sistemas o pasar de uno pequeño a otro mayor, como el MiniSeq™, el MiSeq™ o el NextSeq™ (figura 3).

Secuenciación en el sistema iSeq 100

Tras la preparación de las bibliotecas, estas se cargan en un cartucho de reactivo precargado para el sistema iSeq 100. Gracias al cartucho precargado, comenzar un experimento en el sistema iSeq 100 es tan fácil como descongelar, cargar y todo está listo en cinco minutos (tiempo total de participación activa). El sistema iSeq 100 incorpora los pasos de desnaturalización, la amplificación clónica, la secuenciación y el análisis de los datos en un único instrumento, eliminando la necesidad de adquirir equipo auxiliar. La interfaz de usuario intuitiva sirve de guía durante cada paso de la preparación del experimento y de los procesos de inicio de este, lo que permite a los investigadores realizar varias aplicaciones de secuenciación con una formación del usuario y un tiempo de preparación mínimos.

Sensibilidad analítica alta y exactitud con el proceso químico de secuenciación por síntesis

Durante el experimento de secuenciación, el sistema iSeq 100 emplea el proceso químico de SBS acreditado de Illumina, que es el más utilizado en el mundo para secuenciación de última generación.³ El sistema iSeq 100 ofrece datos de gran calidad con más del 80 % de las bases en Q30* o por encima (tabla 1, figura 4).

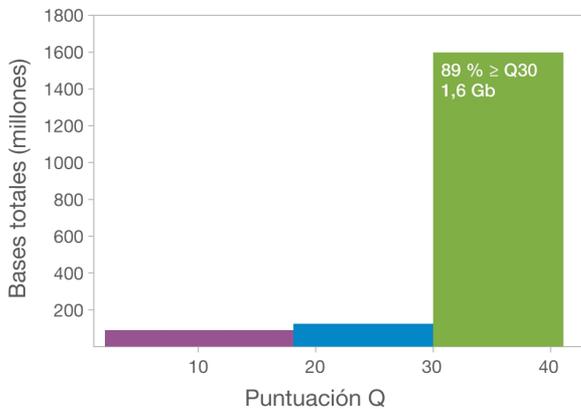


Figura 4: Puntuaciones de calidad del sistema iSeq 100. Una puntuación de calidad (puntuación Q) es una predicción de la probabilidad de un error en la llamada de base. Una puntuación Q de 30 (Q30) se considera el punto de referencia para la obtención de datos de alta calidad.⁴ Un experimento de un grupo de microorganismos llevado a cabo en el sistema iSeq 100, configurado en 2 × 151 pb, proporciona >89 % de bases ≥ Q30.

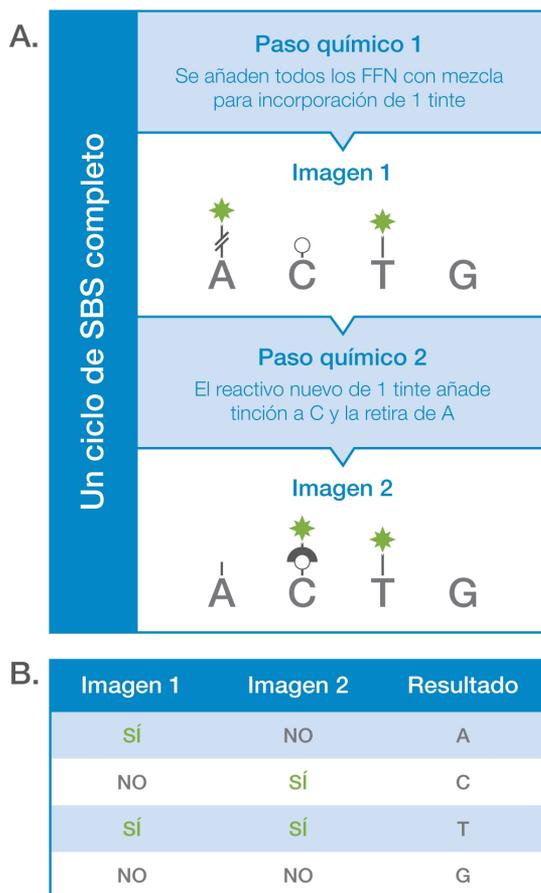


Figura 5: Proceso químico de SBS de un canal. (A) El proceso químico de SBS de un canal consta de dos pasos químicos y dos pasos de adquisición de imágenes por ciclo de secuenciación, para lo que utiliza nucleótidos que pueden estar etiquetados o no, en función del paso químico. (B) La llamada de bases se determina mediante el patrón de señales encontrado en ambas imágenes.

Este método basado en terminadores reversibles detecta bases individuales a medida que se incorporan a cadenas de ADN en crecimiento y permite la secuenciación en paralelo de millones de fragmentos de ADN. Los procesos químicos de SBS de Illumina aprovechan la competencia natural entre los cuatro nucleótidos etiquetados para reducir la tendencia a la incorporación y favorecer una secuenciación más exacta de regiones repetitivas y homopolímeros.⁵ En comparación con la secuenciación de Sanger, basada en la electroforesis capilar, la NGS puede detectar muchas más variantes de ADN, como las de baja frecuencia y las ordenadas adyacentes, todo más rápidamente y con menos tiempo de participación activa por parte del usuario.^{1,2}

Revolucionario proceso químico de SBS de un canal

El sistema iSeq 100 combina la SBS acreditada de Illumina con la tecnología CMOS para proporcionar un proceso químico de secuenciación por síntesis de un solo canal. El sistema iSeq 100 utiliza una celda de flujo de tramas con nanopocillos creados sobre un chip de CMOS. La agrupación y la secuenciación se producen en los nanopocillos, que están alineados directamente sobre cada fotodiodo de CMOS (píxel). El proceso químico propio ExAmp garantiza que en cada pocillo solo se forme un grupo. El uso de un sensor de CMOS incorporado en el consumible representa un método de detección simple y rápido.

Al contrario que con el proceso químico de SBS de cuatro canales, donde los secuenciadores emplean cuatro tintes diferentes para cada nucleótido, un paso químico y cuatro imágenes por ciclo de secuenciación, el sistema iSeq 100 solo necesita un tinte, dos pasos químicos y dos imágenes por ciclo de secuenciación (figura 5). En el proceso químico de un solo canal, la adenina posee una etiqueta extraíble y solo va etiquetada en la primera imagen. La citosina posee un grupo conector que puede fijar una etiqueta y que se etiqueta únicamente en la segunda imagen. La timina lleva una etiqueta fluorescente permanente y, por tanto, está etiquetada en ambas imágenes, y la guanina está oscura permanentemente (sin etiqueta). Los nucleótidos se identifican por medio del análisis de los diferentes trazados de emisión de cada base en las dos imágenes.

Análisis de datos flexible y sencillo

El sistema iSeq 100 ofrece varias opciones de análisis de datos, entre las que cuentan el análisis en el propio sistema y el basado en la nube. Local Run Manager es un software de análisis plenamente integrado en el instrumento que se caracteriza por una estructura modular que le permite adaptarse a los ensayos actuales y futuros. Con el software Local Run Manager es posible planificar experimentos de secuenciación, hacer el seguimiento de bibliotecas y experimentos con registros de auditoría, y realizar la integración con módulos de análisis de datos incorporados. Al ejecutar Local Run Manager en el ordenador del instrumento, los usuarios pueden supervisar el progreso del experimento y ver los resultados del análisis desde otros equipos conectados a la misma red. Tras finalizar un experimento de secuenciación, Local Run Manager inicia automáticamente el análisis de los datos usando uno de los módulos

de análisis específicos de la aplicación. Los módulos pueden producir datos de alineación, identificar variantes de nucleótido único (SNV), variantes estructurales, realizar análisis de la expresión, análisis de ARN de pequeño tamaño, etc. (tabla 2).

Por otra parte, los datos de secuencias se pueden transferir, analizar y almacenar inmediatamente en BaseSpace™ Sequence Hub, el entorno informático de genómica de Illumina. Debido a los formatos de datos estándar del sector, los desarrolladores externos han creado un amplio ecosistema de aplicaciones de código abierto comerciales en BaseSpace Sequence Hub que permiten la realización de análisis sucesivos de datos. Estas aplicaciones proporcionan algoritmos automatizados para genomas completos, exomas, transcriptomas y datos de resecuenciación selectiva para su alineación, detección de variantes, anotación, visualización, etc.

Versátil y compatible con una amplia gama de aplicaciones

Con un resultado máximo de 1,2 Gb, el sistema iSeq 100 ofrece secuenciación multiplexada rápida para varias aplicaciones:

- Secuenciación del genoma completo de tamaño pequeño
- Resecuenciación selectiva
 - o Resecuenciación selectiva con AmpliSeq for Illumina
 - o PCR de rango largo
- Secuenciación *de novo*
- Validación de corrección genética
- Metagenómica (secuenciación del ARNr 16S)
- Secuenciación selectiva de ARNm
- Secuenciación de ARN pequeño
- Evaluación de múltiples genomas
- Clasificación basada en secuencias del antígeno leucocitario humano (HLA)

Tabla 2: Ejemplos de aplicaciones y configuraciones de los experimentos del sistema iSeq 100

Aplicación	Muestras/experimento	Duración del experimento
Secuenciación de genoma pequeño		
Genomas de 5-10 Mb, cobertura de 30× 2 × 150 pb	1-8	17,5 h
Creación selectiva de perfiles de expresiones genéticas		
Hasta 500 objetivos 1 × 50 pb	1-48	9 h
Secuenciación selectiva de amplicones		
Hasta 3000 amplicones 2 × 150 pb	1-48	17,5 h

Datos para realizar pedidos

Sistema	N.º de catálogo
Sistema de secuenciación iSeq 100	20021532
Kits de reactivos de secuenciación	
	N.º de catálogo
Reactivo iSeq 100 i1 (kit único para 300 ciclos)	20021533
Paquete de 4 reactivos iSeq 100 i1 (4 kits para 300 ciclos)	20021534

Resumen

A pesar de que el sistema iSeq 100 es el instrumento más pequeño de la gama de Illumina, presenta grandes ventajas. En comparación con otros sistemas de secuenciación más grandes o con la contratación externa, el sistema iSeq 100 permite la realización más rápida y económica de experimentos de menor escala, la autonomía de no tener que recurrir a la contratación externa y el control del proceso de secuenciación de principio a fin. Asimismo, al formar parte de una solución completa que abarca una serie de kits de preparación de bibliotecas y los pasos de secuenciación y de análisis de datos sencillo, el sistema iSeq 100 ofrece un flujo de trabajo asistido e integral. Con un precio asequible y un tamaño pequeño, el sistema iSeq 100 acerca las posibilidades de la NGS a prácticamente cualquier laboratorio y presupuesto.

Referencias

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, T. M.; Gibson, J. F.; et al. [Massively parallel multiplex ADN sequencing for specimen identification using an Illumina MiSeq platform](#). *Sci Rep*. 2015;5:9687.
3. Cálculos de datos en archivo. Illumina, Inc., 2015.
4. Illumina (2011) [Quality Scores for Next-Generation Sequencing](#). Acceso: 1 de diciembre de 2017.
5. Bentley, D. R.; Balasubramanian, S.; Swerdlow, H. P.; et ál. [Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53-59.

Especificaciones del sistema iSeq 100

Parámetro	Especificaciones
Configuración del instrumento	Seguimiento de RFID para consumibles
Ordenador de control del instrumento (interno) ^a	Unidad base: Celeron J1900, 2 GHz, CPU de cuatro núcleos Memoria: 8 GB de RAM Disco duro: 240 GB, estado sólido (SSD) Sistema operativo: Windows 10 IoT Enterprise
Entorno operativo	Temperatura: entre 15 °C y 30 °C (22,5 °C ±7,5 °C) Humedad: humedad relativa sin condensación entre el 20 % y el 80 % Altitud: menos de 2000 m Calidad del aire: clasificación II del grado de contaminación Ventilación: hasta 2048 BTU/h a 600 W Para uso exclusivo en interiores
Diodo luminiscente (LED)	520 nm, 460 nm; 1,5 W/cm ² en el plano de imagen
Dimensiones	Anchura x profundidad x altura: 30,5 cm x 33 cm x 28 cm Peso: 16 kg Peso con el envase: 21 kg
Requisitos de alimentación	90–264 V CA, 47–63 Hz 80 W
Identificador de radiofrecuencia (RFID)	Frecuencia: 13,56 MHz Alimentación: Corriente de alimentación de 120 mA, potencia de salida de RF de 200 mW
Seguridad y cumplimiento del producto	NRTL con certificación IEC Marcado CE 61010-1 Aprobado por FCC/IC

a. Las especificaciones del ordenador están sujetas a cambio.

Información adicional

Para obtener más información sobre el sistema iSeq 100, visite www.illumina.com/iseq

Para obtener más información sobre la tecnología CMOS y la SBS de un canal, descárguese la nota técnica [Illumina CMOS Chip and One-Channel SBS Chemistry](#)

Para ampliar la información sobre la secuenciación microbiana y mitocondrial en el sistema iSeq 100, consulte las notas sobre aplicaciones [Microbial WGS with the iSeq 100 System](#) o [Mitochondrial DNA Sequencing on the iSeq 100 System](#)

Para consultar las Preguntas frecuentes, visite la página [iSeq 100 System FAQs Page](#)

Illumina, Inc. • 1.800.809.4566 (llamada gratuita, EE. UU.) • Tel.: +1.858.202.4566 • techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2018 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales son propiedad de Illumina, Inc. o de sus respectivos dueños. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, visite www.illumina.com/company/legal.html. Publicación N.º 770-2017-020-A-ESP QB 5473

illumina[®]