

Systeme de séquençage iSeq^{MC} 100

Le plus petit et le plus abordable des systèmes de séquençage d'Illumina permet un séquençage à faible débit efficace et rapide pour pratiquement tous les laboratoires.

Points forts

- Rapidité de la génération des données**
 Exécutez les petits projets sur un instrument dédié à faible débit dont le temps de traitement est court
- Librairies de qualité et validation de principe commodes**
 Évaluez la qualité des librairies avant de procéder aux analyses de grande envergure, faites des études pilotes ou générez des données en vue d'une demande de subvention
- Opérations autonomes pour plus de commodité**
 Contrôlez le processus de séquençage du début à la fin et maintenez votre propre calendrier de séquençage en évitant la sous-traitance
- Sensibilité analytique élevée et précision exceptionnelle des données**
 Tirez parti d'une grande sensibilité analytique pour la détection de variants et de transcrits rares, comparativement à la méthode qPCR ou au séquençage Sanger^{1,2}



Figure 2 : Le système iSeq 100 : mesurant à peine plus de 0,03 mètre cube (1 pied cube), le système iSeq 100 procure la puissance du SNG dans le système de séquençage de table le plus compact de la gamme de produits d'Illumina.

Introduction

Voici la toute dernière innovation en matière de séquençage nouvelle génération (SNG). Le système compact iSeq 100 d'Illumina (figure 1) allie la technologie des semi-conducteurs complémentaires à l'oxyde de métal (CMOS) à la précision éprouvée de la chimie de séquençage par synthèse (SBS) d'Illumina pour produire rapidement des données d'une grande précision. Le système iSeq 100 génère 1,2 Gb de données par analyse en 17,5 heures et procure la haute résolution et la grande sensibilité analytique requises pour la détection de variants et de transcrits rares^{1,2}.

Le système iSeq 100 prend peu de place et offre de grands avantages. Il permet de réaliser des analyses de petite envergure rapidement et à peu de frais sans avoir recours à des systèmes plus imposants. Grâce au système iSeq 100, les chercheurs peuvent

réaliser les analyses à leur propre rythme, sans devoir attendre l'atteinte d'un lot de taille optimale pour l'utilisation d'un système à débit élevé et sans avoir recours à des sous-traitants. De plus, ils gardent le contrôle du processus de séquençage du début à la fin, ce qui leur donne une plus grande confiance en ce qui a trait à l'intégrité des échantillons et aux résultats de l'analyse des données. À un prix abordable pour la plupart des laboratoires, le système iSeq 100 constitue une solution économique pour les projets indépendants de séquençage nouvelle génération à petite échelle.

Flux de travail rationalisé, en trois étapes

Le système iSeq 100 s'intègre dans un flux de travail rationalisé en trois étapes qui comprend la préparation des librairies, le séquençage et l'analyse des données (figure 2).



Figure 1 : Le flux de travail du système iSeq 100 : le système iSeq 100 s'intègre dans un flux de travail rationalisé, de l'ADN aux données.

Tableau 1 : Paramètres de rendement du système iSeq 100^a

Configuration de l'analyse	Lectures (passant le filtre)/analyse	Rendement	Scores de qualité ^b	Durée de l'analyse ^c
1 × 36 pb	4 M	144 Mb	> 85 %	9 heures
1 × 50 pb	4 M	200 Mb	> 85 %	9 heures
1 × 75 pb	4 M	300 Mb	> 80 %	10 heures
2 × 75 pb	4 M	600 Mb	> 80 %	13 heures
2 × 150 pb	4 M	1,2 Gb	> 80 %	17,5 heures

a. Les paramètres de performance peuvent varier en fonction du type d'échantillon, de la qualité de l'échantillon et du nombre d'amplifiats passant le filtre.

b. Le pourcentage de bases > Q30 est une moyenne calculée sur l'intégralité de l'analyse.

c. La durée de l'analyse englobe la génération des amplifiats, le séquençage, la définition des bases et l'attribution des scores de qualité.



Figure 3 : La gamme de systèmes de SNG : les systèmes de SNG d'Illumina proposent des solutions pour un vaste éventail d'applications, de types d'échantillons et de besoins en matière de débit. Ils fournissent tous des données d'une grande précision, de la souplesse sur le plan du débit et des flux de travail simples et rationalisés.

Préparation rapide des librairies

Le système iSeq 100 est compatible avec toute la gamme des trousse de préparation de librairies d'Illumina. Avec les trousse de préparation de librairies Nextera^{MC} XT et Nextera DNA Flex, les chercheurs peuvent préparer des librairies multiplexées en trois à quatre heures pour le séquençage de petits génomes ou le séquençage direct de longs amplicons. De plus, la nouvelle solution de reséquençage ciblé AmpliSeq^{MC} pour Illumina offre du contenu conçu par des spécialistes. Les panels ciblés AmpliSeq sont offerts sous forme de panels fixes prêts à l'utilisation, de panels conçus par la communauté scientifique ou de panels personnalisés répondant à des besoins précis pour la recherche. Selon la version choisie, les trousse de préparation de librairies d'Illumina peuvent ne nécessiter que 1 ng d'ADN ou d'ARN (ADNc) d'entrée et prendre en charge l'ADN extrait d'échantillons fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FPPE), tels que des tissus tumoraux préservés.

Le système iSeq 100 est compatible avec toutes les trousse de préparation de librairies d'Illumina, ce qui assure la compatibilité croisée avec tous les instruments d'Illumina. Cette compatibilité croisée permet aux chercheurs de comparer facilement les données entre les systèmes ou de passer à un système de plus grande envergure, comme les systèmes MiniSeq^{MC}, MiSeq^{MC}, ou NextSeq^{MC} (figure 3).

Séquençage sur le système iSeq 100

Après leur préparation, les librairies sont chargées dans une cartouche de réactifs préremplie conçue pour le système iSeq 100. Pour lancer l'analyse dans le système iSeq 100, il suffit de décongeler et de charger la cartouche préremplie, ce qui ne prend que cinq minutes (durée de manipulation totale). Le système iSeq 100 réalise les étapes de la dénaturation des librairies, l'amplification clonale, le séquençage et l'analyse des données dans un même instrument, ce qui évite d'avoir à se procurer de l'équipement auxiliaire. L'interface utilisateur intuitive guide les chercheurs à toutes les étapes de la configuration et du lancement de l'analyse, ce qui leur permet de réaliser des analyses de séquençage aux fins de diverses applications moyennant un minimum de formation, avec un délai de configuration minimal.

Sensibilité analytique et précision exceptionnelles grâce à la chimie SBS

Au cours de l'analyse de séquençage, le système iSeq 100 a recours à la chimie SBS éprouvée d'Illumina; la technologie de SNG la plus utilisée à l'échelle mondiale³. Le système iSeq 100 génère des données de grande qualité, plus de 80 % des bases ayant un score de qualité égal ou supérieur à Q30* (tableau 1, figure 4).

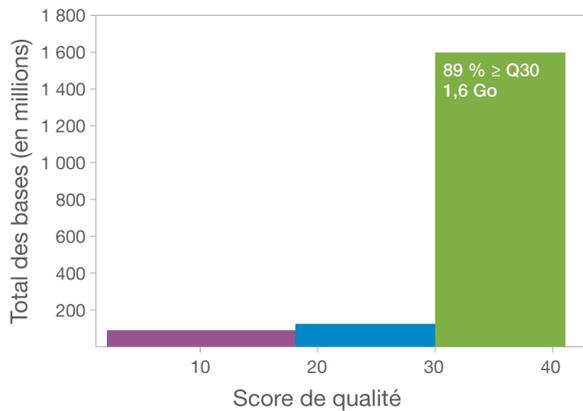


Figure 4 : Scores de qualité du système iSeq 100 : le score de qualité est une prédiction de la probabilité d'une erreur dans l'appel des bases. Le score de qualité de 30 (Q30) est généralement considéré comme le point de référence pour les données de haute qualité⁴. Pour un regroupement d'échantillons microbiens analysé sur le système iSeq 100 selon une configuration de 2 x 151 pb, plus de 89 % des bases ont un score de qualité égal ou supérieur à Q30.

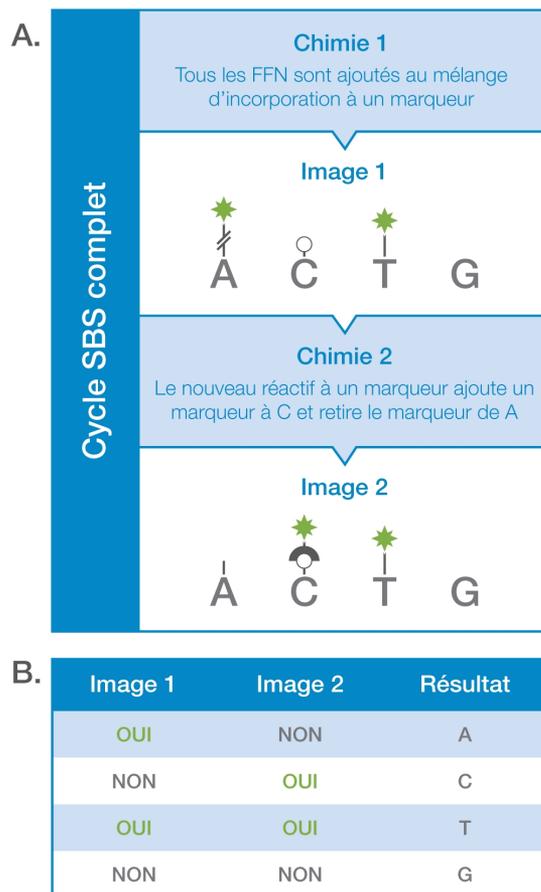


Figure 5 : La chimie SBS à un canal : (A) la chimie SBS à un canal comprend deux étapes de chimie et deux étapes d'imagerie par cycle de séquençage et a recours à des nucléotides pouvant être marqués ou non selon l'étape de la chimie. (B) La définition des bases est déterminée par le motif du signal dans les deux images.

Cette méthode fondée sur un terminateur réversible permet le séquençage parallèle de millions de fragments d'ADN, détectant des bases uniques à mesure que celles-ci sont incorporées dans des brins d'ADN en formation. La chimie SBS d'Illumina exploite la compétition naturelle entre les quatre nucléotides marqués, ce qui réduit le biais lié à l'incorporation et permet un séquençage plus précis des régions répétitives et des homopolymères⁵. Comparativement au séquençage Sanger basé sur l'électrophorèse capillaire, le SNG peut détecter un plus large éventail de variants d'ADN, notamment les variants à faible fréquence et les variants mis en phase adjacents, tout en réduisant le temps d'obtention des résultats et le nombre d'étapes de manipulation^{1,2}.

Chimie SBS à un canal hautement novatrice

Le système iSeq 100 allie la chimie SBS éprouvée d'Illumina et la technologie CMOS pour offrir une chimie de séquençage à un canal. Le système iSeq 100 utilise une Flow Cell structurée dont les nanopuits se trouvent au-dessus d'une puce de type CMOS. La génération d'amplifiats et le séquençage se font dans les nanopuits, qui sont alignés directement au-dessus des photodiodes CMOS (pixels). La chimie brevetée ExAmp fait en sorte qu'un seul amplifiat se forme dans chaque nanopuits. L'utilisation d'un capteur CMOS enchâssé dans le consommable est une méthode de détection simple et rapide.

Contrairement à la chimie SBS à quatre canaux, pour laquelle les séquenceurs utilisent quatre marqueurs différents pour chaque nucléotide, ainsi qu'une étape de chimie et quatre images par cycle de séquençage, le système iSeq 100 utilise un seul marqueur, deux étapes de chimie et deux images par cycle de séquençage (figure 5). Dans le cas de la chimie à un canal, le marqueur de l'adénine peut être retiré et l'adénine n'est marquée qu'à la première image. Le groupe de liaison de la cytosine peut lier un marqueur et n'est marqué qu'à la deuxième image. La thymine a un marqueur fluorescent permanent et est donc marquée dans les deux images, et la guanine n'est jamais marquée. Les nucléotides sont identifiés par l'analyse des différents motifs d'émissions pour chaque base, dans les deux images.

Analyse simple et flexible des données

Le système iSeq 100 offre différentes options d'analyse des données, y compris l'analyse sur instrument et l'analyse infonuagique. Le logiciel d'analyse de bord Local Run Manager, pleinement intégré, comporte une architecture modulaire adaptable aux tests actuels et futurs. Le logiciel Local Run Manager prend en charge la planification des analyses de séquençage, le suivi des librairies et des analyses à l'aide des pistes de vérification et l'intégration avec les modules d'analyse de données de bord. Pendant que Local Run Manager s'exécute sur l'ordinateur de l'instrument, les utilisateurs peuvent suivre les progrès de l'analyse et visualiser les résultats sur un autre ordinateur connecté au même réseau. Une fois l'analyse de séquençage terminée, Local Run Manager lance automatiquement l'analyse des données à l'aide de l'un des modules d'analyse propres à l'application. Les modules

peuvent générer des données d'alignement, identifier des variants à simple nucléotide (SNV) et des variants structurels, analyser l'expression génique, analyser les petits ARN, et plus encore (tableau 2).

Les données de séquençage peuvent aussi être instantanément transférées, analysées et entreposées de manière sécuritaire dans BaseSpace Sequence Hub^{MC}, l'environnement informatisé de génomique d'Illumina. Grâce aux formats de données d'application sectorielle, des développeurs tiers ont créé un environnement varié d'applications payantes et gratuites dans BaseSpace Sequence Hub pour une analyse des données en aval. Ces applications comportent des algorithmes automatisés pour l'analyse du génome entier, des exomes et des transcriptomes, ainsi que des données sur le reséquençage ciblé pour l'alignement, la détection des variants, l'annotation, la visualisation, etc.

Un système polyvalent pour la prise en charge d'une large gamme d'applications

Offrant un rendement maximal de 1,2 Gb, le système iSeq 100 permet de réaliser rapidement un séquençage multiplexé, pour diverses applications :

- Séquençage d'un petit génome entier
- Reséquençage ciblé
 - o Reséquençage ciblé avec AmpliSeq pour Illumina
 - o PCR longs fragments
- Séquençage *de novo*
- Validation de l'édition génique
- Métagénomique (séquençage 16S ARNr)
- Séquençage d'ARNm ciblé
- Séquençage de petits ARN
- Évaluation de multiples génomes
- Typage des antigènes des leucocytes humains (HLA) basé sur les séquences

Tableau 2 : Exemples d'applications du système iSeq 100 et des configurations d'analyses

Application	Échantillons/Analyse	Durée de l'analyse
Séquençage de petits génomes		
Génomes de 5 à 10 Mb, couverture de 30x 2 × 150 pb	1 à 8	17,5 heures
Profilage ciblé de l'expression génique		
Jusqu'à 500 cibles 1 × 50 pb	1 à 48	9 heures
Séquençage d'amplicons ciblés		
Jusqu'à 3 000 amplicons 2 × 150 pb	1 à 48	17,5 heures

Renseignements relatifs à la commande

Système	N° de référence
Système de séquençage iSeq 100	20021532
Trousses de réactifs de séquençage	N° de référence
Réactif iSeq 100 i1 (trousse unique de 300 cycles)	20021533
Réactif iSeq 100 i1, boîte de 4 (quatre trousses de 300 cycles)	20021534

Résumé

Le système iSeq 100 est le plus petit instrument de la gamme Illumina, mais il comporte de grands avantages. Comparativement aux systèmes de séquençage de plus grande envergure ou à l'utilisation des services de sous-traitants, le système iSeq 100 permet de réaliser de petites analyses plus rapidement et de façon plus abordable, procure de l'autonomie et permet de contrôler le processus de séquençage du début à la fin. De plus, comme il fait partie d'une solution complète englobant toute la gamme de trousses de préparation de librairies, le séquençage et l'analyse conviviale des données, le système iSeq 100 offre un flux de travail entièrement pris en charge et intégré. Compact et peu coûteux, le système iSeq 100 permet à pratiquement tous les laboratoires de mettre à profit la puissance du SNG, quel que soit leur budget.

Références

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. Calcul des données internes. Illumina, Inc., 2015.
4. Illumina (2011) [Quality Scores for Next-Generation Sequencing](#). Consulté le 1 décembre 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.

Spécifications du système iSeq 100

Paramètre	Spécifications
Configuration de l'instrument	Suivi RFID pour consommables
Ordinateur de commande de l'instrument (interne) ^a	Unité de base : processeur Celeron J1900, 2 GHz, quatre cœurs Mémoire vive : 8 Go de RAM Disque dur : 240 Go, SSD Système d'exploitation : Windows 10 IoT Entreprise
Environnement de fonctionnement	Température : de 15 °C à 30 °C (22,5 °C ± 7,5 °C) Humidité : humidité relative de 20 % à 80 % sans condensation Altitude : moins de 2 000 m (6 500 pi) Qualité de l'air : classement pollution de degré II Aération : maximum de 2 048 BTU/h à 600 W Réservé à un usage en intérieur
Diode électroluminescente (DEL)	520 nm, 460 nm; 1,5 W/cm ² au plan image
Dimensions	L × P × H : 30,5 cm × 33 cm × 28 cm (12,0 po × 13,0 po × 11,0 po) Poids : 16 kg (35 lb) Poids emballé : 21 kg (47 lb)
Exigences d'alimentation	de 90 à 264 V CA, à 47 à 63 Hz 80 W
Identification par radiofréquence (RFID)	Fréquence : 13,56 MHz Alimentation : courant d'alimentation de 120 mA, puissance de sortie RF de 200 mW
Sécurité et conformité du produit	Certifié NRTL CEI Certifié CE 61010-1 Conforme FCC/IC

a. Les spécifications informatiques sont susceptibles de changer.

En savoir plus

Pour en savoir plus sur le système iSeq 100, rendez-vous sur : www.illumina.com/iseq.

Pour plus de renseignements sur la technologie CMOS et la chimie SBS à un canal, téléchargez la [note technique sur la puce CMOS](#) et [la chimie SBS à un canal d'Illumina](#).

Pour en savoir plus sur le séquençage microbien ou mitochondrial sur le système iSeq 100, consultez les notes d'application sur le [séquençage de génomes microbiens entiers à l'aide du système iSeq 100](#) ou sur le [séquençage d'ADN mitochondrial à l'aide du système iSeq 100](#).

Pour voir la Foire aux questions, consultez la [FAQ du système iSeq 100](#).

Illumina, Inc. • 1 800 809 4566 (numéro sans frais aux États-Unis) • tél. +1 858 202 4566 • techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2018 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html. Pub. n° 770-2017-020-A-FRA. QB5473

illumina[®]