

iSeq™ 100 Sequencing System

Das kleinste und
kostengünstigste
Sequenziersystem
von Illumina

- Kostensparendes System für unabhängigen Betrieb
- Schnelle Datengenerierung mit kurzen Durchlaufzeiten
- Herausragende Datengenauigkeit für hohe analytische Sensitivität
- Praktische Evaluierung der Bibliotheksqualität und entsprechende Pilottests

illumina®

Einleitung

Das kompakte iSeq 100 System von Illumina macht die Sequenzierung der nächsten Generation (NGS, Next-Generation Sequencing) einfacher und günstiger (Abbildung 1). Das iSeq 100 System vereint CMOS-Technologie (Complementary Metal-Oxide Semiconductor, komplementärer Metall-Oxid-Halbleiter) mit der bewährten Zuverlässigkeit der SBS-Chemie (Sequencing By Synthesis, Sequenzierung durch Synthese) von Illumina und liefert so schnell besonders genaue Daten. Das iSeq 100 System generiert pro Lauf in 19 Stunden mindestens 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 auf kleinem Raum. 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 gewährt bleibt. Das iSeq 100 System stellt mit seinem für praktisch alle Labore 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: Das iSeq 100 System ist Teil eines optimierten Workflows von der DNA bis zu den Daten.



Abbildung 1: iSeq 100 System: Das iSeq 100 System ist das kompakteste NGS-Tischsystem von Illumina.

Schnelle Bibliotheksvorbereitung

Das iSeq 100 System ist kompatibel mit sämtlichen Bibliotheksvorbereitungskits von Illumina. Mit den Nextera™ XT- und Illumina DNA Prep-Bibliotheksvorbereitungskits können Forscher in drei bis vier Stunden multiplexierte Bibliotheken für die Sequenzierung von kleinen Genomen und die direkte Long-Range-Amplikonsequenzierung vorbereiten. Darüber hinaus zeichnet sich AmpliSeq™ for Illumina Targeted Resequencing Solution durch von Experten zusammengestellte Inhalte in einsatzbereiten Fix-Panels, von der Community erstellte Panels oder anwendungsspezifische Panels aus und erfüllt damit spezifische Forschungsanforderungen. 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-Gewebe) extrahierte DNA-Proben wie beispielsweise konserviertes Tumorgewebe.

Sequenzierung mit dem iSeq 100 System

Nach der Bibliotheksvorbereitung werden die doppelsträngigen Bibliotheken in eine aufgetaute, vorgefüllte Reagenzienkartusche und anschließend in das iSeq 100 System geladen. Die Schritte zum Start eines Laufs bestehen lediglich aus Auftauen, Laden und Starten. Der gesamte manuelle Aufwand beträgt nur 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-Technologie

Das iSeq 100 System liefert anhand der bewährten Illumina SBS-Technologie hochwertige Daten mit > 80 % der Basen bei mindestens Q30 (Tabelle 1, Abbildung 3). Diese Methode auf Grundlage reversibler Terminatoren 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 natürlichen Mechanismen zwischen allen vier gekennzeichneten Nukleotiden, was die Integrationsfehler reduziert und eine zuverlässigere Sequenzierung von repetitiven Regionen und Homopolymeren ermöglicht.⁴ 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 seltener Varianten und benachbarter phasierter Varianten, erkannt werden.

Tabelle 1: Leistungsparameter des iSeq 100 System^a

| Laufkonfiguration ^b | Reads nach Filterung/Lauf | Ausgabe | Qualitäts-Scores ^c | Laufzeit ^d |
|--------------------------------|---------------------------|---------|-------------------------------|-----------------------|
| 1 × 36 bp | 4 Mio. | 144 Mb | > 85 % | ca. 9,5 h |
| 1 × 50 bp | 4 Mio. | 200 Mb | > 85 % | ca. 10 h |
| 1 × 75 bp | 4 Mio. | 300 Mb | > 80 % | ca. 11 h |
| 2 × 75 bp | 4 Mio. | 600 Mb | > 80 % | ca. 14 h |
| 2 × 150 bp | 4 Mio. | 1,2 Gb | > 80 % | ca. 19 h |

- a. Die Leistungsparameter können je nach Probenotyp, Probenqualität und Cluster nach Filterung (PF, Passing Filter) variieren.
- b. Hierbei handelt es sich um gängige Konfigurationen des Kits iSeq 100 i1 Reagents v2 (300 cycle).
- c. Der Prozentsatz der Basen > Q30 wird über den gesamten Lauf gemittelt.
- d. Zeiten einschließlich Clusterbildung, Sequenzierung, Base-Calling und Qualitätsbewertung.

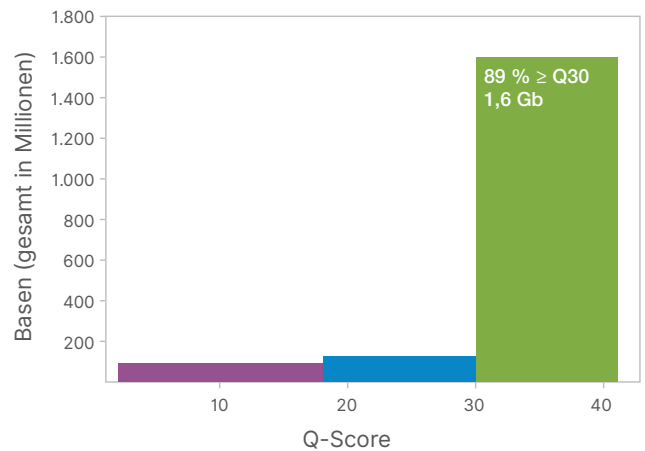


Abbildung 3: Qualitäts-Scores für das iSeq 100 System: Ein Qualitäts-Score (Q-Score) ist eine Prognose über die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers beim Base-Calling. Ein Q-Score von 30 (Q30) gilt weithin als Vergleichsmaßstab für hochwertige Daten.³ Ein Lauf mit einem Mikrogenpool auf dem iSeq 100 System bei 2 × 151 bp liefert über 89 % der Basen hinweg einen Q-Score ≥ Q30.

Hochgradig innovative, einkanalige SBS-Chemie

Das iSeq 100 System vereint bewährte SBS-Chemie von Illumina auf einer strukturierten Fließzelle mit Nanowells über einem CMOS-Chip in einer einkanaligen Sequenzierungschemie. Clustering und Sequenzierung erfolgen in den Nanowells, die sich direkt über den einzelnen CMOS-Fotodioden (Pixeln) 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.

Die einkanalige SBS-Chemie nutzt einen Farbstoff, zwei Chemieschritte und zwei Bilder je Sequenzierungszyklus (Abbildung 4). Nukleotide werden durch Analysen der unterschiedlichen Emissionsmuster der einzelnen Basen in den beiden Bildern bestimmt. Adenin erhält eine temporäre Kennzeichnung und wird nur im ersten Bild gekennzeichnet. 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).



Weitere Informationen zur einkanaligen SBS-Chemie finden Sie im [technischen Hinweis zum CMOS-Chip und zur einkanaligen SBS-Chemie von Illumina](#).

Einfache, flexible Datenanalyse

Das iSeq 100 System bietet unterschiedliche Datenanalyseoptionen, darunter geräteinterne und cloudbasierte Lösungen. Local Run Manager, eine vollständig integrierte Analysesoftware auf dem Gerät, zeichnet sich durch ihre modulare Architektur aus, die aktuelle und künftige Analyseverfahren unterstützt. Local Run Manager unterstützt die Sequenzierungslaufplanung, die Verfolgung von Bibliotheken und Läufen über Prüfpfade sowie die Integration geräteinterner Datenanalysemodule. Während Local Run Manager auf dem Gerätecomputer läuft, können Benutzer den Fortschritt des Laufs überwachen und die Analyseergebnisse von Remote-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 sowie Einzelnukleotidvarianten (SNVs, Single-Nucleotide Variants) 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 Cloud-Computing-Umgebung 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 Genom-, Exom- und Transkriptomdaten sowie Daten zur gezielten Resequenzierung für Alignment, Variantenerkennung, Annotation, Visualisierung usw.

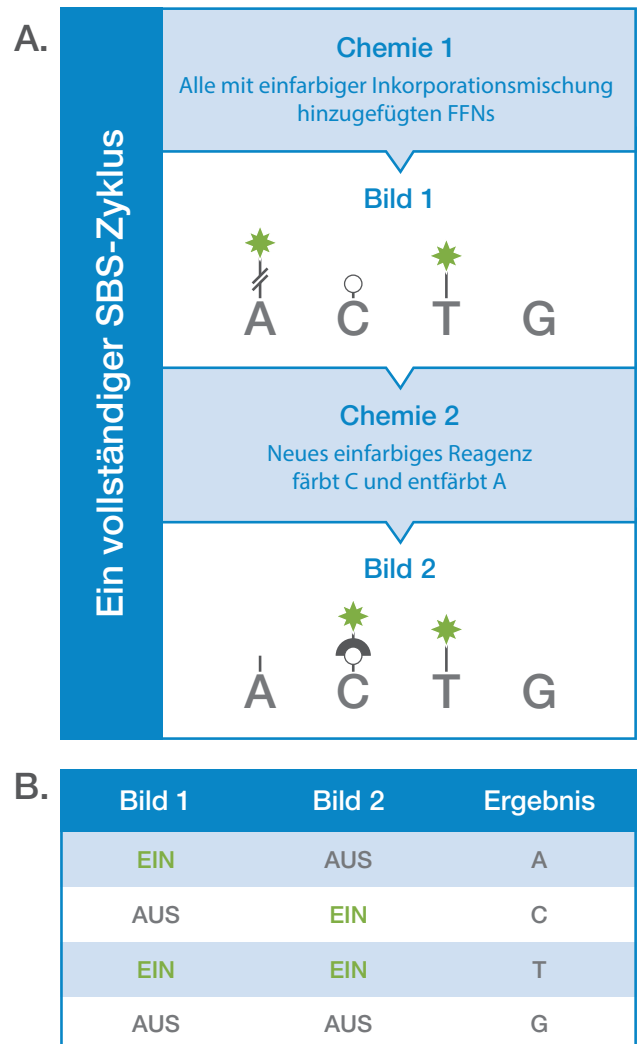


Abbildung 4: Einkanalige SBS-Chemie: (A) Bei der einkanaligen SBS-Chemie erfolgen je zwei Chemie- und Bildgebungsschritte pro Sequenzierungszyklus mit je nach Chemie-Schritt gekennzeichneten bzw. nicht gekennzeichneten Nukleotiden. (B) Der Base-Call wird anhand des Signalmusters der beiden Bilder bestimmt.

Breites Anwendungsspektrum

Mit einer minimalen Ausgabe von 1,2 Gb bei der höchsten unterstützten Read-Länge ermöglicht das iSeq 100 System die schnelle multiplexierte Sequenzierung bei zahlreichen Anwendungen:

- Sequenzierung kleiner Genome
- Gezielte Resequenzierung
 - AmpliSeq for Illumina Targeted Resequencing
 - Long-Range-PCR
- *De-novo*-Sequenzierung
- Genome Editing-Validierung
- Metagenomik (16S rRNA-Sequenzierung)
- Gezielte mRNA-Sequenzierung
- Sequenzierung von kleiner RNA
- Beurteilung mehrerer Genome
- HLA-sequenzbasierte Typisierung (humanes Leukozytenantigen)

Tabelle 2: Beispielanwendungen und Laufkonfigurationen

| Anwendung | Proben/Lauf | Laufzeit |
|--|-------------|-----------|
| Sequenzierung kleiner Genome Genome mit 5–10 Mb, 30-fache Coverage, 2 × 150 bp | 1–8 | ca. 19 h |
| Gezieltes Genexpressions-Profilierung Bis zu 500 Targets 1 × 50 bp | 1–48 | ca. 9,5 h |
| Gezielte Amplikonsequenzierung Bis zu 3.000 Amplikons 2 × 150 bp | 1–48 | ca. 19 h |

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 Sequenziersystemen 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 Laboren.

Weitere Informationen

iSeq 100 Sequencing System: [illumina.com/iseq](https://www.illumina.com/iseq)

Anwendungen für das iSeq System: [illumina.com/systems/sequencing-platforms/iseq/applications.html](https://www.illumina.com/systems/sequencing-platforms/iseq/applications.html)

Häufig gestellte Fragen: [FAQ-Seite zum iSeq 100 System](#)

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. doi:10.1155/2015/161648
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. doi:10.1038/srep09687
3. Illumina. Quality Scores for Next-Generation Sequencing. [illumina.com/documents/products/technotes/technote_Q-Scores.pdf](https://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote_Q-Scores.pdf). Veröffentlicht 2011. Aufgerufen am 2. Februar 2023.
4. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53–59. doi:10.1038/nature07517

iSeq 100 System – Technische Daten

| Parameter | Spezifikation |
|---------------------------------------|--|
| Gerätekonfiguration | RFID-Tracking für Verbrauchsmaterialien |
| Gerätesteuereungs-computer (intern) | Basiseinheit: Celeron J1900, 2 GHz, Quad-Core-CPU Arbeitsspeicher: 8 GB RAM HDD: SSD (240 GB) 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, 1,5 W/cm ² auf dem Bildbereich |
| Abmessungen | B × T × H (Bildschirm in oberer Position): 30,5 cm × 33 cm × 42,5 cm Gewicht: 16 kg Bruttogewicht: 21 kg |
| Leistungsbedarf | 100–240 V AC bei 50/60 Hz 80 W |
| RFID (Radio Frequency Identification) | Frequenz: 13,56 MHz Leistung: Versorgungsstrom 120 mA, RF-Ausgangsleistung 200 mW |
| WLAN-Spezifikationen | Frequenz: 2,4-GHz- und 4-GHz-Standard IEEE 802.11a IEEE 802.11b IEEE 802.11g IEEE 802.11n IEEE 802.11aC Leistung: 3,3 V DC, Versorgungsstrom 780 mA |
| Produktsicherheit und Compliance | NRTL-Zertifizierung IEC CE-Kennzeichnung gemäß 61010-1 FCC/IC-Zulassung |

a. Änderungen der Computerspezifikationen vorbehalten.

Bestellinformationen

| System | Katalog-Nr. |
|---|-------------|
| iSeq 100 Sequencing System | 20021535 |
| Sequenzierungsreagenzien-Kits | Katalog-Nr. |
| iSeq 100 i1 Reagent v2 (300-cycle) | 20031371 |
| iSeq 100 i1 Reagent v2 (300-cycle) 4 pack | 20031374 |
| iSeq 100 i1 Reagent v2 (300-cycle) 8 pack | 20040760 |



+1 800 8094566 (USA, gebührenfrei) | +1 858 2024566
(Tel. außerhalb der USA)
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 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.
M-GL-00456 DEU v1.0