

iSeq™ 100 Sequencing System

El sistema de secuenciación
de Illumina más pequeño
y asequible

- Sistema rentable para operaciones independientes.
- Rápida generación de datos con tiempos de respuesta rápidos.
- Precisión de datos excepcional para una alta sensibilidad analítica.
- Evaluación práctica de la calidad de las librerías y de la viabilidad.

illumina®

Introducción

La secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) es más sencilla y asequible con el compacto iSeq 100 System de Illumina (figura 1). iSeq 100 System combina la tecnología de semiconductor complementario de óxido metálico (CMOS, complementary metal-oxide semiconductor) con la exactitud probada de la química de secuenciación por síntesis (SBS, sequencing by synthesis) de Illumina, con lo que consigue ofrecer datos de gran precisión y tiempos de procesamiento rápidos. iSeq 100 System genera un rendimiento mínimo de 1,2 Gb de datos por experimento en 19 horas y proporciona la alta resolución y la sensibilidad analítica necesarias para la detección de variantes y transcritos infrecuentes.^{1,2}

Aunque iSeq 100 System ocupa muy poco espacio, las ventajas que ofrece son grandes. Hace posible realizar experimentos a pequeña escala rápidos y rentables sin necesidad de utilizar sistemas más grandes. Con iSeq 100 System en el 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 productividad 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, iSeq 100 System representa una solución rentable para llevar a cabo secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) de manera independiente y a pequeña escala.

Flujo de trabajo optimizado en tres pasos

iSeq 100 System forma parte de un flujo de trabajo optimizado en tres pasos que incluye la preparación de librerías, la secuenciación y el análisis de los datos (figura 2).



Figura 2: iSeq 100 System forma parte de un flujo de trabajo optimizado de ADN a datos.



Figura 1: iSeq 100 System. Aproveche la potencia de la secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) en el sistema de secuenciación de sobremesa más compacto y asequible de la gama de soluciones de Illumina.

Preparación rápida de librerías

iSeq 100 System es compatible con el paquete completo de kits de preparación de librerías de Illumina. Con los kits de preparación de librerías de ADN de Illumina y Nextera™ XT, los investigadores pueden preparar librerías multiplexadas en 3 o 4 horas para la secuenciación de genomas de pequeño tamaño y de amplicones de rango largo. Además, AmpliSeq™ for Illumina Targeted Resequencing Solution ofrece contenido diseñado por expertos en paneles fijos listos para usar, paneles diseñados por la comunidad o paneles personalizados para satisfacer necesidades de investigación específicas. En función del kit, los kits de preparación de librerías de Illumina pueden necesitar tan solo 1 ng de entrada de ADN o ARN (ADNc) y tienen la flexibilidad de admitir ADN extraído de muestras fijadas en formol y embebidas en parafina (FFPE, formalin fixed, paraffin-embedded), como tejido tumoral conservado.

Secuenciación en iSeq 100 System

Tras la preparación de librerías, se cargan las librerías bicatenarias en un cartucho de reactivos precargado y descongelado y este se carga en iSeq 100 System. Comenzar un experimento es tan fácil como descongelar, cargar y todo está listo en tan solo cinco minutos en total de tiempo de participación activa. iSeq 100 System incorpora los pasos de desnaturalización de la librería, amplificación clónica, secuenciación y análisis de los datos en un único instrumento, eliminando la necesidad de adquirir equipos auxiliares. La intuitiva interfaz de usuario 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.

Elevada sensibilidad analítica y exactitud gracias a la tecnología de SBS

iSeq 100 System emplea la tecnología probada de SBS de Illumina para ofrecer datos de alta calidad con >80 % de bases igual a o por encima de Q30 (tabla 1, figura 3). Este método basado en terminadores reversibles detecta las bases individuales a medida que se incorporan a las cadenas de ADN en crecimiento y permite la secuenciación paralela de millones de fragmentos de ADN. La química de SBS de Illumina emplea la competencia natural entre los cuatro nucleótidos marcados, lo que reduce la tendencia a la incorporación y permite una secuenciación más precisa de regiones repetitivas y homopolímeros.⁴ A diferencia de la secuenciación de Sanger, basada en la electroforesis capilar, la secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) puede detectar una gama más amplia de variantes de ADN, incluidas las variantes de baja frecuencia y las variantes de fase de hebra retrasada adyacentes, con resultados más rápidos y menos pasos de participación activa.

Tabla 1: Parámetros de rendimiento de iSeq 100 System^a

Configuración del experimento ^b	Lecturas PF/ experimento	Rendimiento	Puntuaciones de calidad ^c	Duración del experimento ^d
1 × 36 pb	4 M	144 Mb	>85 %	Aprox. 9,5 h
1 × 50 pb	4 M	200 Mb	>85 %	Aprox. 10 h
1 × 75 pb	4 M	300 Mb	>80 %	Aprox. 11 h
2 × 75 pb	4 M	600 Mb	>80 %	Aprox. 14 h
2 × 150 pb	4 M	1,2 Gb	>80 %	Aprox. 19 h

- a. Los parámetros de rendimiento pueden variar en función del tipo de muestra, de la calidad de la muestra y de los grupos que superan el filtro (PF, passing filter).
- b. Estas son configuraciones comunes del kit iSeq 100 i1 Reagents v2 (300 cycle).
- c. En todo el experimento, se promedia un porcentaje de bases por encima de Q30.
- d. Los tiempos incluyen la generación de grupos, la secuenciación, la llamada de bases y la puntuación de calidad.

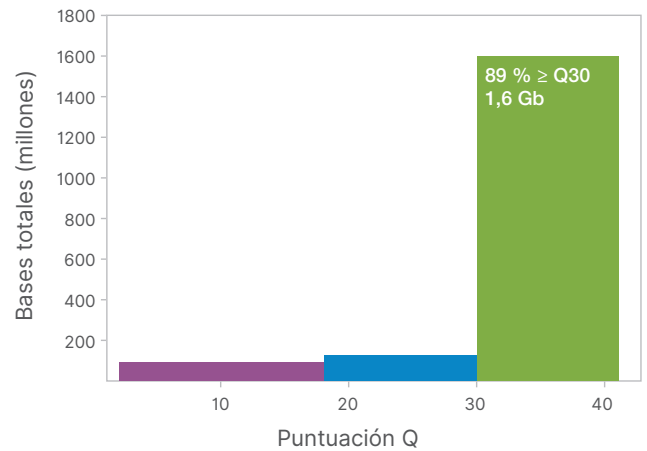


Figura 3: Puntuaciones de calidad de iSeq 100. Una puntuación de calidad (o puntuación Q) es una predicción de la probabilidad de error en la llamada de bases. Una puntuación Q de 30 (Q30) se considera normalmente un punto de referencia para los datos de alta calidad.³ Un experimento de un grupo de microorganismos llevado a cabo en iSeq 100 System configurado en 2 × 151 pb, proporciona más del 89 % de bases ≥Q30.

Química de SBS en un canal revolucionaria

iSeq 100 System utiliza la química demostrada de SBS de Illumina en una celda de flujo de tramas con nanopocillos fabricados sobre un chip de CMOS para ofrecer una química de secuenciación de un solo canal. La generación de grupos y la secuenciación se producen en los nanopocillos, que están alineados directamente sobre cada fotodiodo de CMOS (píxel). El proceso químico exclusivo ExAmp garantiza que en cada nanopocillo solo se forme un solo grupo. El uso de un sensor de CMOS incorporado en el consumible representa un método de detección simple y rápido.

La química de SBS de un solo canal emplea un solo colorante, dos pasos químicos y dos imágenes por ciclo de secuenciación (figura 4). Los nucleótidos se identifican mediante el análisis de los diferentes patrones de emisión de cada base en las dos imágenes. La adenina tiene una etiqueta extraíble y solo va etiquetada en la primera imagen. La citosina tiene 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).



Siga leyendo sobre la química de SBS de un solo canal en la [Illumina CMOS Chip and One-Channel SBS Chemistry technical note](#) (nota técnica sobre el chip de CMOS de Illumina y la química de SBS de un solo canal).

Análisis de datos flexible y sencillo

iSeq 100 System ofrece varias opciones de análisis de datos, entre las que se incluyen el análisis en el propio sistema y en soluciones basadas en la nube. Local Run Manager, un software de análisis plenamente integrado en el instrumento, se caracteriza por una estructura modular que le permite adaptarse a los ensayos actuales y futuros. Con Local Run Manager es posible planificar experimentos de secuenciación, hacer el seguimiento de librerías 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 equipos remotos conectados a la misma red. Tras finalizar un experimento de secuenciación, Local Run Manager inicia automáticamente el análisis de 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, single nucleotide variants), variantes estructurales, realizar análisis de la expresión, análisis de ARN pequeño, etc. (tabla 2).

Por otra parte, los datos de secuencias se pueden transferir, analizar y almacenar inmediatamente en BaseSpace™ Sequence Hub, el entorno de computación genómica en la nube de Illumina. Debido a los formatos de datos estándar del sector, los desarrolladores externos han creado un amplio ecosistema de aplicaciones comerciales y de código abierto en BaseSpace Sequence Hub que permiten realizar análisis de datos sucesivos. Estas

aplicaciones proporcionan algoritmos automatizados para genomas completos, exomas, transcriptomas y datos de resecuenciación selectiva para su alineación, detección de variantes, anotación, visualización, etc.

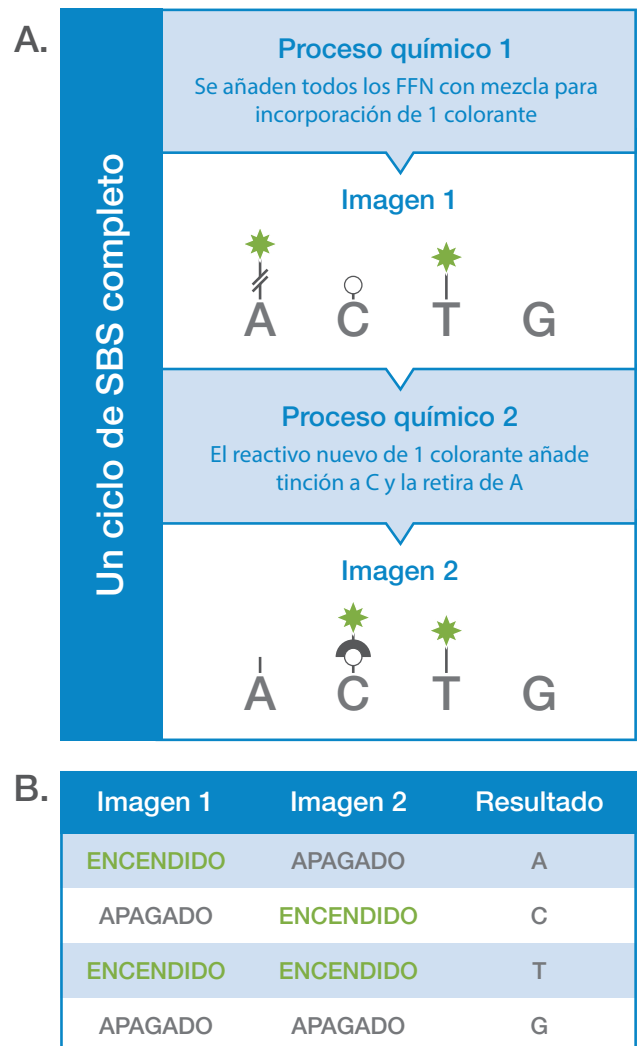


Figura 4: Química de SBS de un canal. (A) La química de SBS de un canal consta de dos pasos químicos y dos pasos de adquisición de imágenes por ciclo de secuenciación, para lo que utiliza nucleótidos que pueden estar etiquetados o no, en función del paso químico. (B) La llamada de bases se determina mediante el patrón de señales encontrado en ambas imágenes.

Amplia gama de aplicaciones

Con un rendimiento mínimo de 1,2 Gb con la longitud de lectura máxima compatible, iSeq 100 System ofrece secuenciación multiplexada rápida para varias aplicaciones:

- Secuenciación del genoma completo de tamaño pequeño
- Resecuenciación selectiva
 - Resecuenciación selectiva con AmpliSeq for Illumina
 - 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 experimentos

Aplicación	Muestras/ experimento	Duración del experimento
Secuenciación de genoma pequeño Genomas de 5–10 Mb, cobertura de 30x, 2 × 150 pb	1–8	Aprox. 19 h
Creación selectiva de perfiles de expresión genética Hasta 500 objetivos 1 × 50 pb	1–48	Aprox. 9,5 h
Secuenciación selectiva de amplicones Hasta 3000 amplicones 2 × 150 pb	1–48	Aprox. 19 h

Resumen

Aunque iSeq 100 System es el instrumento más pequeño de la gama de soluciones de Illumina, presenta grandes ventajas. En comparación con otros sistemas de secuenciación más grandes o con la contratación externa, iSeq 100 System permite realizar experimentos a pequeña escala más rápidos y rentables, 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 librerías y los pasos de secuenciación y de análisis de datos sencillo, iSeq 100 System ofrece un flujo de trabajo asistido e integral. Con un precio asequible y un tamaño pequeño, iSeq 100 System acerca las posibilidades de la secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) a prácticamente cualquier laboratorio y presupuesto.

Información adicional

iSeq 100 Sequencing System, illumina.com/iseq

Aplicaciones para iSeq System, illumina.com/systems/sequencing-platforms/iseq/applications.html

Preguntas frecuentes, [página de preguntas frecuentes de iSeq 100 System](#)

Bibliografía

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 (Puntuaciones de calidad para secuenciación de nueva generación). illumina.com/documents/products/technotes/technote_Q-Scores.pdf. Año de publicación: 2011. Fecha de consulta: 2 de febrero de 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

Especificaciones de iSeq 100 System

Parámetro	Especificación
Configuración del instrumento	Seguimiento de RFID para consumibles
Ordenador de control del instrumento (interno)	Unidad base: CPU Celeron J1900 de 4 núcleos a 2 GHz Memoria: RAM de 8 GB Disco duro: SSD de 240 GB Sistema operativo: Windows 10 IoT Enterprise
Entorno operativo	Temperatura: de 15 °C a 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, 1,5 W/cm ² en el plano de imagen
Dimensiones	Anchura × profundidad × altura (monitor levantado): 30,5 cm × 33 cm × 42,5 cm Peso: 16 kg Peso con el embalaje: 21 kg
Requisitos de alimentación	100—240 V CA a 50/60 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
Especificaciones de WLAN	Frecuencia: Estándar de 2,4 GHz y 4 GHz IEEE 802.11a IEEE 802.11b IEEE 802.11g IEEE 802.11n IEEE 802.11aC Alimentación: 3,3 VDC, corriente de suministro 780 mA
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 cambios.

Datos para realizar pedidos

Sistema	N.º de catálogo
iSeq 100 Sequencing System	20021535
Kits de reactivos de secuenciación	N.º de catálogo
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



1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) | Tel.: +1 858 202 4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-00456 ESP v1.0