

iSeq™ 100-System

Das kleinste und günstigste Illumina-Sequenziersystem ermöglicht praktisch jedem Labor schnelle und effiziente Analysen.

Vorteile

- Schnelle Datengenerierung**
 Führen Sie kleinere Projekte auf einem speziellen Gerät 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.
- Herausragende Datengenauigkeit**
 Nutzen Sie die im Vergleich zur qPCR- oder Sanger-Sequenzierung höhere analytische Sensitivität zur Bestimmung seltener Varianten und Transkripte.



Einleitung

Das kompakte iSeq 100-System von Illumina macht die Sequenzierung der nächsten Generation (Next-Generation Sequencing, NGS) einfacher und günstiger (Abbildung 1). Das iSeq 100-System 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 19 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

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

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: Workflow des iSeq100-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 (PF)/Lauf	Ausgabe	Qualitäts-Scores ^b	Laufzeit ^c
1 × 36 bp	4 Mio.	144 Mb	> 85 %	ca. 9 Stunden
1 × 50 bp	4 Mio.	200 Mb	> 85 %	ca. 9 Stunden
1 × 75 bp	4 Mio.	300 Mb	> 80 %	ca. 10 Stunden
2 × 75 bp	4 Mio.	600 Mb	> 80 %	ca. 13 Stunden
2 × 150 bp	4 Mio.	1,2 Gb	> 80 %	ca. 19 Stunden

a. Die Leistungsparameter können je nach Probenotyp, 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.

Schnelle Bibliotheksvorbereitung

Das iSeq 100-System ist kompatibel mit sämtlichen Bibliotheksvorbereitungskits von Illumina. Mit den Nextera™ XT- und Illumina DNA Prep-Bibliothekskits 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 AmpliSeq™ for Illumina Targeted Resequencing Solution professionell konzipierte Inhalte. Zielgerichtete AmpliSeq for Illumina-Panels sind als gebrauchsfertige 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.

Sequenzierung mit dem iSeq 100-System

Nach der Bibliotheksvorbereitung werden die Bibliotheken in eine aufgetaute, vorgefüllte Reagenzienkartusche für 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 nutzt die bewährte SBS-Technologie von Illumina, mit der > 90 % aller Sequenzierungsdaten weltweit generiert werden,³ und liefert so hochwertige Daten, bei denen > 80 % der Basen mindestens Q30 aufweisen (Tabelle 1, Abbildung 3). Diese Methode auf Grundlage reversibler Terminatoren 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 markierten Nukleotiden, 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}

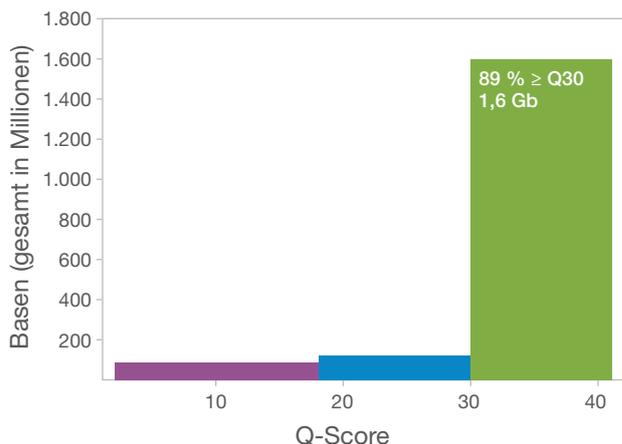


Abbildung 3: Qualitäts-Scores für das iSeq 100-System: Ein Qualitäts-Score (Q-Score) ist eine Prognose über die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers beim Base-Calling. Ein Q-Score von 30 (Q30) gilt allgemein als Indikator für hohe Datenqualität.⁴ Ein mikrobieller Pool-Lauf im iSeq 100-System mit 2 × 151 bp liefert für mehr als 89 % der Basen einen Score von ≥ 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](#).

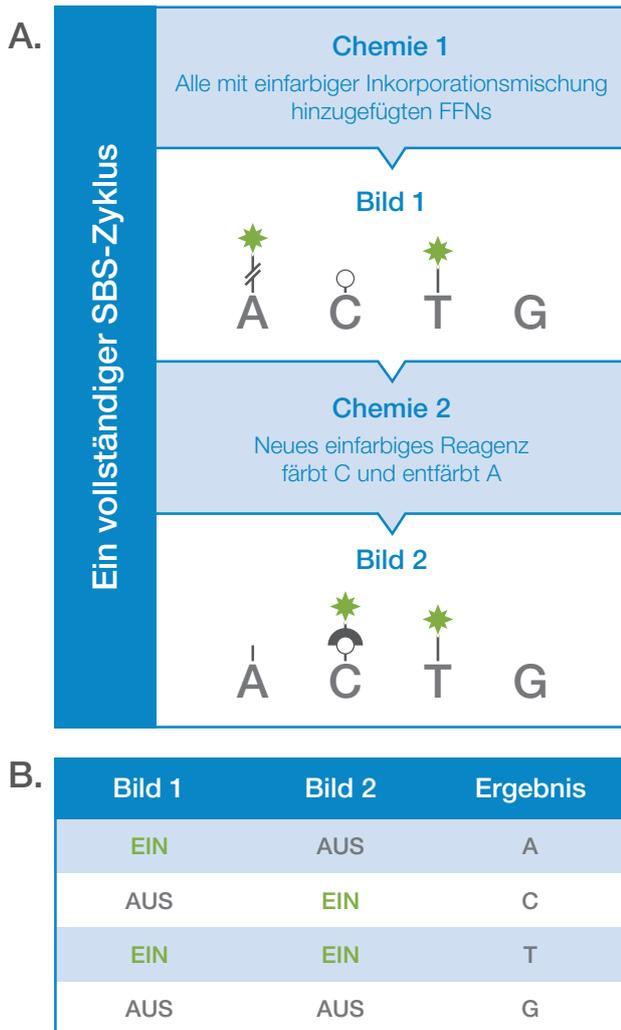


Abbildung 4: Einkanalige SBS-Chemie: (A) Bei der einkanaligen SBS-Chemie erfolgen je zwei Chemie- und Bildgebungsschritte pro Sequenzierungszyklus mit je nach Chemie-Schritt gekennzeichneten bzw. nicht gekennzeichneten Nukleotiden. (B) Der Base-Call wird anhand des Signalmusters zwischen den beiden Bildern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

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 der Ausführung 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) 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 usw.

Vielseitigkeit zur Unterstützung einer großen Anzahl Anwendungen

Mit einer maximalen Ausgabe von 2,0 Gb ermöglicht das iSeq 100-System die schnelle multiplexierte Sequenzierung bei zahlreichen Anwendungen:

- Sequenzierung kleiner Gesamtgenome
- 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
- Assessment mehrerer Genome
- HLA-sequenzbasierte Typisierung (Human Leukocyte Antigen)

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

Anwendung	Proben/Lauf	Laufzeit
Sequenzierung kleiner Genome		
5–10 Mb Genome, 30× Coverage 2 × 150 bp	1–8	ca. 19 Stunden
Gezieltes Genexpressions-Profilung		
Bis zu 500 Targets 1 × 50 bp	1–48	ca. 9 Stunden
Gezielte Amplikonsequenzierung		
Bis zu 3.000 Amplikons 2 × 250 bp	1–48	ca. 19 Stunden

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 Labors.

Weitere Informationen

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

Weitere Informationen zu Anwendungen für das iSeq 100-System finden Sie unter www.illumina.com/systems/sequencing-platforms/iseq/learn.

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

Bestellinformationen

System	Katalog-Nr.
iSeq 100-Sequenziersystem	20021535
Sequenzierungsreagenzien-Kits	Katalog-Nr.
iSeq 100i1 Reagent v2 (300 Zyklen)	20031371
iSeq 100i1 Reagent v2 (300 Zyklen), 4er-Packung	20031374
iSeq 100i1 Reagent v2 (300 Zyklen), 8er-Packung	20040760

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., 2017.
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	Spezifikation
Gerätekonfiguration	RFID-Tracking für Verbrauchsmaterialien
Gerätesteuerecomputer (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 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	BxTxH (Bildschirm in oberer Position): 30,5 cm x 33 cm x 42,5 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
WLAN-Spezifikationen	Frequenz: 2,4-GHz- und 5-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.

Innovative NGS-Plattformen

Illumina bietet ein umfassendes Sortiment an leistungsstarken NGS-Sequenziersystemen, die sich durch hohe Datenqualität und perfekte Abstimmung auf unterschiedlichste Anwendungen auszeichnen. Vergleichstabellen für Tisch- und Produktionssysteme sowie Tools, die Sie bei der Auswahl der für Ihren Bedarf geeigneten Plattform unterstützen, finden Sie hier:

www.illumina.com/systems