

iSeq™ 100 Sequencing System

O menor e mais acessível
sistema de sequenciamento
da Illumina

- Sistema econômico para operações independentes
- Geração rápida de dados com tempos de resposta rápidos
- Exatidão dos dados excepcional para alta sensibilidade analítica
- Avaliação de qualidade e testes práticos de prova de princípio de bibliotecas convenientes

illumina®

Introdução

O sequenciamento de última geração (NGS) é mais fácil e mais econômico com o Illumina iSeq 100 System compacto (Figura 1). O iSeq 100 System combina a tecnologia de semicondutor de óxido metálico complementar (complementary metal-oxide semiconductor, CMOS) com a comprovada precisão da química de sequenciamento por síntese (sequencing by synthesis, SBS) da Illumina, oferecendo dados de alta precisão com tempos de processamento rápidos. O iSeq 100 System gera um resultado mínimo de 1,2 Gb de dados por corrida em 19 horas, oferecendo alta resolução e sensibilidade analítica que são necessárias para a detecção de variantes e transcrições raras.^{1,2}

Embora o iSeq 100 System ocupe um pequeno espaço, ele oferece enormes vantagens. Ele fornece corridas em pequena escala, rápidas e econômicas, sem a necessidade de sistemas maiores. Com iSeq 100 System no laboratório, os pesquisadores podem realizar corridas de acordo com sua conveniência, sem ter que aguardar por tamanhos ideais de lotes em sistemas com rendimento maior ou terceirizar. Além disso, os pesquisadores podem manter o controle do processo de sequenciamento do início ao fim, oferecendo mais confiança na integridade da amostra e nos resultados da análise de dados. Com um preço de mercado adequado ao orçamento de praticamente qualquer laboratório, o iSeq 100 System oferece uma solução econômica para NGS independente e de pequena escala.

Fluxo de trabalho simplificado de três etapas

O iSeq 100 System é parte de um fluxo de trabalho simplificado de três etapas que inclui preparação de bibliotecas, sequenciamento e análise de dados (Figura 2).



Figura 1: iSeq 100 System - Utilize a potência do NGS no sistema de sequenciamento de bancada mais compacto e econômico do portfólio da Illumina.

Preparação rápida de bibliotecas

O iSeq 100 System é compatível com o conjunto completo de kits de preparação de bibliotecas da Illumina. Usando os Nextera™ XT e Illumina DNA Prep Library Kits, os pesquisadores podem preparar bibliotecas multiplexadas em 3 a 4 horas para sequenciamento de genomas pequenos e sequenciamento direto de amplicons de longo alcance. Além disso, o AmpliSeq™ for Illumina Targeted Resequencing Solution oferece conteúdo projetado por especialistas em painéis fixos prontos para uso, painéis projetados pela comunidade ou painéis personalizados para atender a necessidades específicas de pesquisa. Dependendo do kit, os kits de preparação de bibliotecas da Illumina exigem no mínimo 1 ng de DNA ou RNA (cDNA) de entrada e têm a flexibilidade de acomodar DNA extraído de amostras fixadas em formalina e emblocadas em parafina (formalin fixed, paraffin-embedded, FFPE), como tecido tumoral preservado.



Figura 2: O iSeq 100 System é parte de um fluxo de trabalho simplificado de DNA para dados.

Sequenciamento no iSeq 100 System

Depois da preparação, as bibliotecas de fita dupla são carregadas em um cartucho de reagente descongelado e pré-preenchido, e carregadas no iSeq 100 System. Iniciar uma corrida é tão fácil quanto descongelar, carregar e iniciar, levando apenas cinco minutos de tempo total de trabalho efetivo. O iSeq 100 System integra etapas de desnaturação de biblioteca, amplificação clonal, sequenciamento e análise de dados em um só instrumento, eliminando a necessidade de comprar equipamento auxiliar. A interface intuitiva do usuário oferece orientação em cada etapa dos processos de configuração e início da corrida, possibilitando que os pesquisadores realizem diversas aplicações de sequenciamento com treinamento mínimo do usuário e tempo mínimo de configuração.

Alta sensibilidade e precisão analítica com tecnologia de SBS

O iSeq 100 System utiliza a comprovada tecnologia de SBS da Illumina para fornecer dados de alta qualidade com > 80% das bases em ou acima de Q30 (Tabela 1, Figura 3). Esse método baseado em terminadores reversíveis detecta bases simples à medida que são incorporadas em fitas de DNA em crescimento e possibilita o sequenciamento paralelo de milhões de fragmentos de DNA. A química de SBS da Illumina utiliza a competição natural entre todos os quatro nucleotídeos identificados, o que reduz o viés de incorporação e possibilita o sequenciamento mais preciso de regiões repetitivas e homopolímeros.⁴ Em comparação com o sequenciamento Sanger baseado em eletroforese capilar, o NGS pode detectar um conjunto mais amplo de variantes de DNA, incluindo variantes de baixa frequência e variantes em fases adjacentes, com um tempo mais rápido até os resultados e menos etapas práticas.

Tabela 1: Parâmetros de desempenho do iSeq 100 System^a

| Configuração da corrida ^b | Leituras PF/corrída | Saída | Pontuações de qualidade ^c | Tempo de corrida ^d |
|--------------------------------------|---------------------|--------|--------------------------------------|-------------------------------|
| 1 × 36 bp | 4 milhões | 144 Mb | > 85% | Aprox. 9,5 h |
| 1 × 50 bp | 4 milhões | 200 Mb | > 85% | Aprox. 10 h |
| 1 × 75 bp | 4 milhões | 300 Mb | > 80% | Aprox. 11 h |
| 2 × 75 bp | 4 milhões | 600 Mb | > 80% | Aprox. 14 h |
| 2 × 150 bp | 4 milhões | 1,2 Gb | > 80% | Aprox. 19 h |

a. Os parâmetros de desempenho podem variar com base no tipo de amostra, na qualidade da amostra e no filtro de passagem (PF) de clusters.

b. Estas são configurações comuns do iSeq 100 i1 Reagents v2 (300 cycle) kit.

c. A porcentagem de bases > Q30 é calculada em média durante toda a corrida.

d. Os tempos abrangem a clusterização, o sequenciamento, a identificação de bases e a pontuação de qualidade.

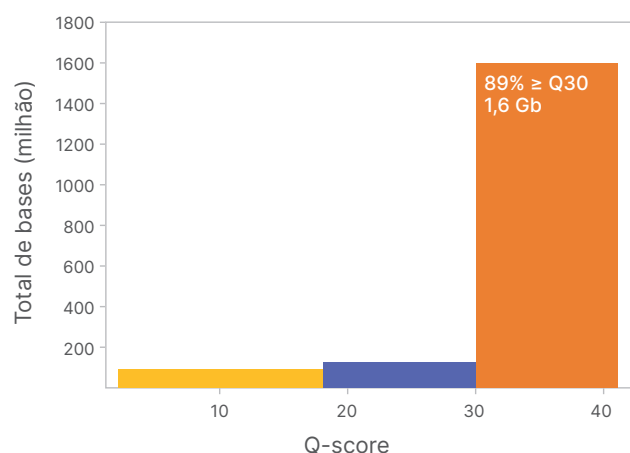


Figura 3: Pontuações de qualidade do iSeq 100 System - Uma pontuação de qualidade (Q-Score) é uma estimativa da probabilidade de um erro na identificação de bases. Uma Q-score de 30 (Q30) é amplamente considerada um benchmark para dados de alta qualidade.³ Uma corrida de pool microbiano no iSeq 100 System a 2 × 151 bp fornece mais de 89% de bases a ≥ Q30.

Química de SBS altamente inovadora de um canal

O iSeq 100 System usa a comprovada química de SBS da Illumina em uma lâmina de fluxo padronizada com nanoporos fabricados em um chip CMOS para fornecer química de sequenciamento de um canal. A clusterização e o sequenciamento ocorrem nos nanoporos, que são alinhados diretamente em cada fotodiodo (pixel) de CMOS. A química ExAmp patenteada garante que apenas um cluster se forme em cada nanoporo. O uso de um sensor CMOS integrado ao material de consumo é um método de detecção simples e rápido.

A química de SBS de um canal usa um corante, duas etapas de química e duas imagens por ciclo de sequenciamento (Figura 4). Os nucleotídeos são identificados pela análise dos diferentes padrões de emissão de cada base nas duas imagens. A adenina tem uma identificação removível e é identificada apenas na primeira imagem. A citosina possui um grupo ligante que pode se ligar a uma identificação e é identificada apenas na segunda imagem. A timina tem uma identificação fluorescente permanente e é, portanto, identificada em ambas as imagens. A guanina é permanentemente escura (não identificada).



Leia mais sobre a química de SBS de um canal na [nota técnica Chip CMOS e Química de SBS de um canal da Illumina](#).

Análise de dados fácil e flexível

O iSeq 100 System oferece várias opções de análise de dados, inclusive soluções no instrumento e na nuvem. O Local Run Manager é um software de análise totalmente integrado no instrumento. Ele apresenta arquitetura modular para compatibilidade com ensaios atuais e futuros. O Local Run Manager oferece suporte ao planejamento de corridas de sequenciamento, ao controle de bibliotecas e corridas com trilhas de auditoria e à integração com o módulo de análise de dados no instrumento. Enquanto o Local Run Manager é executado no computador do instrumento, os usuários podem monitorar o progresso da corrida e visualizar os resultados da análise em computadores remotos conectados à mesma rede. Depois de concluir uma corrida de sequenciamento, o Local Run Manager inicia automaticamente a análise de dados usando um dos módulos de análise específicos do aplicativo. Os módulos podem produzir dados de alinhamento e identificar variantes de nucleotídeos simples (single-nucleotide variants, SNVs), variantes estruturais, realizar análise de expressão, análise de RNA pequeno e muito mais (Tabela 2).

Como alternativa, os dados de sequenciamento podem ser transferidos, analisados e armazenados instantaneamente no BaseSpace™ Sequence Hub, o ambiente de computação de genômica em nuvem da Illumina. Devido aos formatos de dados padrão do setor, desenvolvedores externos criaram um rico ecossistema de aplicativos comerciais e de código aberto no BaseSpace Sequence Hub para a análise posterior de dados. Esses aplicativos fornecem algoritmos automáticos para genoma completo, exoma, transcrito e dados de ressequenciamento direcionado para alinhamento, detecção de variante, anotação, visualização e muito mais.

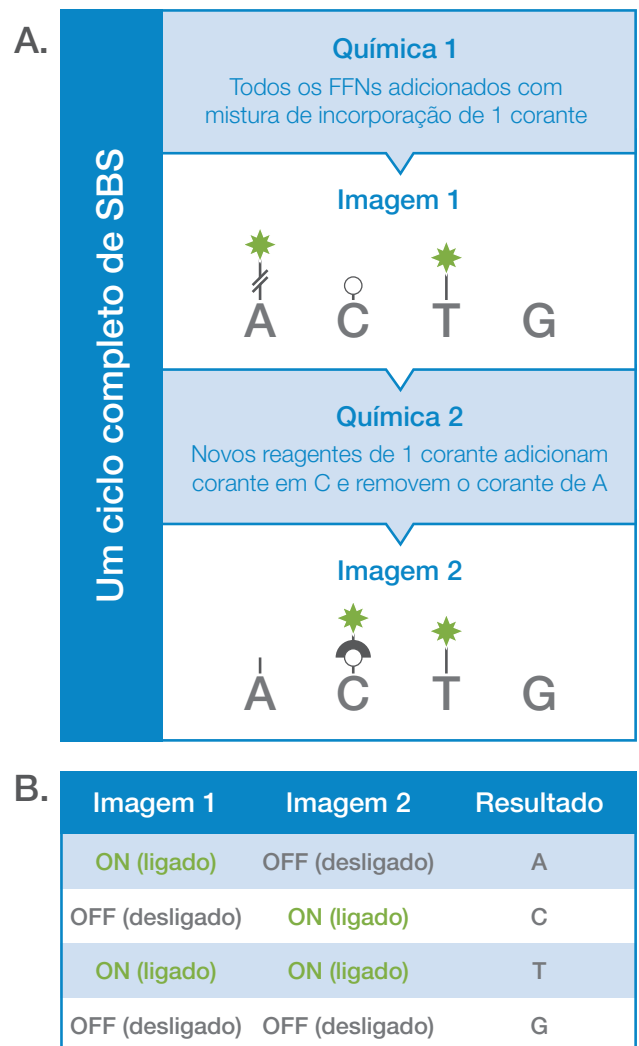


Figura 4: Química de SBS de um canal - (A) A química de SBS de um canal apresenta duas etapas químicas e duas etapas de geração de imagens por ciclo de sequenciamento utilizando nucleotídeos que podem ser identificados ou não, dependendo da etapa química. (B) A identificação de bases é determinada pelo padrão de sinal em ambas as imagens.

Ampla variedade de aplicações

Com uma saída mínima de 1,2 GB para duração da leitura mais longa compatível, o iSeq 100 System oferece sequenciamento rápido e multiplexado a uma variedade de aplicações:

- Sequenciamento de genoma completo de pequenos genomas
- Ressequenciamento direcionado
 - Ressequenciamento direcionado com o AmpliSeq for Illumina
 - PCR de longo alcance
- Sequenciamento *de novo*
- Validação de edição de genes
- Metagenômica (sequenciamento de rRNA 16S)
- Sequenciamento direcionado de mRNA
- Sequenciamento de RNA pequeno
- Avaliação de vários genomas
- Tipagem de antígenos leucocitários humanos (human leukocyte antigen, HLA) com base em sequenciamento

Tabela 2: Aplicações e configurações de corrida de exemplo

| Aplicação | Amostras/corrida | Tempo de corrida |
|---|------------------|------------------|
| Sequenciamento de genomas pequenos Genomas de 5 a 10 Mb, cobertura de 30x, 2 × 150 bp | 1-8 | Aprox. 19 h |
| Identificação de perfil de expressão gênica direcionada Até 500 alvos 1 × 50 bp | 1-48 | Aprox. 9,5 h |
| Sequenciamento direcionado de amplicons Até 3.000 amplicons 2 × 150 bp | 1-48 | Aprox. 19 h |

Resumo

Embora o iSeq 100 System seja o menor instrumento do portfólio da Illumina, ele oferece grandes vantagens. Comparado com sistemas de sequenciamento maiores ou com a terceirização, o iSeq 100 System oferece corridas em escala menor mais rápidas e mais econômicas, independência da terceirização e controle do processo de sequenciamento do início ao fim. Além disso, como parte de uma solução abrangente que conta com uma variedade de kits de preparação de bibliotecas, sequenciamento e análise de dados amigável, o iSeq 100 System oferece um fluxo de trabalho integrado e com suporte completo. Econômico e ocupando pouco espaço, o iSeq 100 System oferece a potência do NGS a praticamente qualquer laboratório, com praticamente qualquer orçamento.

Saiba mais

[iSeq 100 Sequencing System](#)

[Aplicações para o iSeq System](#)

Referências

1. Precone, V.; Monaco, V.D.; Esposito, M.V.; 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 T.M., Gibson J.F., 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](#). Publicado em 2011. Acessado em 2 de fevereiro de 2023.
4. Bentley D.R., Balasubramanian S., Swerdlow H.P., et al. [Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53–59. doi:10.1038/nature07517

Especificações do Illumina iSeq 100 System compacto

| Parâmetro | Especificação |
|---|--|
| Configuração do instrumento | Rastreamento por RFID para materiais de consumo |
| Computador de controle de instrumento (interno) | Unidade de base: Celeron J1900 2 GHz Quad Core CPU Memória: 8 GB de RAM Disco rígido: SSD de 240 GB Sistema operacional: Windows 10 IoT Enterprise |
| Ambiente de operação | Temperatura: 15 °C a 30 °C (22,5 °C ± 7,5 °C) Umidade: 20% a 80% de umidade relativa sem condensação Altitude: menos de 2.000 m (6.500 pés) Qualidade do ar: classificação do grau de poluição de II Ventilação: até 2.048 BTU/hora a 600 W Somente para uso em ambientes fechados |
| Diodo emissor de luz (LED) | 520-530 nm, 1,5 W/cm ² no plano de imagem |
| Dimensões | L x P x A (monitor elevado): 30,5 cm x 33 cm x 42,5 cm (12,0 pol. x 13,0 pol. x 16,7 pol.) Peso: 16 kg (35 libras) Peso com embalagem: 21 kg (47 libras) |
| Requisitos de energia | 100 a 240 VCA em 50/60 Hz 80 W |
| Identificador de radiofrequência (Radio Frequency Identifier, RFID) | Frequência: 13,56 MHz Potência: corrente de alimentação 120 mA, potência de saída de RF 200 mW |
| Conformidade e segurança do produto | Certificado pelo NRTL, IEC 61010-1 Marcação CE Aprovado pela FCC/IC |

a. As especificações de computador estão sujeitas a alterações.

Informações para pedido

| Sistema | N.º do catálogo |
|---|-----------------|
| iSeq 100 Sequencing System | 20021535 |
| Kit de reagentes para sequenciamento | N.º do catálogo |
| iSeq 100 i1 Reagent v2 (300-cycle) | 20031371 |
| iSeq 100 i1 Reagent v2 (300-cycle) - pacote com 4 | 20031374 |
| iSeq 100 i1 Reagent v2 (300-cycle) - pacote com 8 | 20040760 |



1 800-809-4566, ligação gratuita (EUA) | tel. +1 (858) 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados. Todas as marcas comerciais pertencem à Illumina, Inc. ou aos respectivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-00456 PTB v2.0