

Sistema iSeq™ 100

O menor sistema de sequenciamento com preço acessível da Illumina oferece sequenciamento rápido e eficiente, para praticamente qualquer laboratório.

Destaques

- **Geração rápida de dados**
Execute projetos menores em um instrumento exclusivo, com tempos de resposta rápidos
- **Testes práticos de qualidade e prova de princípio de bibliotecas**
Avalie a qualidade da biblioteca antes de grandes execuções, faça estudos piloto ou gere dados de privilégios
- **Operações independentes e práticas**
Controle o processo de sequenciamento do início ao fim e mantenha uma programação independente em vez de terceirizá-la
- **Precisão de dados excepcional**
Aproveite a sensibilidade analítica mais alta para detectar variantes e transcrições raras, em comparação com a reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) ou com o sequenciamento Sanger



Introdução

O sequenciamento de última geração (NGS) é mais fácil e mais econômico com o sistema compacto Illumina iSeq 100 (Figura 1). O sistema compacto Illumina iSeq 100 combina a tecnologia de semicondutor de óxido metálico complementar (CMOS) com a comprovada precisão do sequenciamento Illumina por química de síntese (SBS), oferecendo dados de alta precisão com tempos de processamento rápido. O sistema iSeq 100 gera até 1,2 Gb de dados por execução em 19 horas e oferece alta resolução e sensibilidade analítica, necessárias para a detecção de variantes e transcrições raras.^{1,2}

Embora o sistema iSeq 100 ocupe um pequeno espaço, ele oferece enormes vantagens. Ele fornece execuções em pequena escala, rápidas e econômicas, sem a necessidade de sistemas maiores. Com um sistema iSeq 100 no laboratório, os pesquisadores podem fazer execuções 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

Figura 1: O sistema iSeq 100 — O sistema iSeq 100 oferece a potência do NGS no sistema de sequenciamento de bancada mais compacto e econômico do portfólio da Illumina.

amostra e nos resultados da análise de dados. Com um preço de mercado dentro do orçamento de praticamente qualquer laboratório, o sistema iSeq 100 oferece uma solução econômica para o sequenciamento independente, de pequena escala e de última geração.

Fluxo de trabalho simplificado de três etapas

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



Figura 2: Fluxo de trabalho do sistema iSeq 100 — O sistema iSeq 100 faz parte de um fluxo de trabalho simplificado de DNA para dados.

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

Configuração da execução	Leituras que passam pelo filtro (PF)/execução	Saída	Pontuações de qualidade ^b	Tempo de execução ^c
1 × 36 bp	4M	144 Mb	>85%	~ 9 horas
1 × 50 bp	4M	200 Mb	>85%	~ 9 horas
1 × 75 bp	4M	300 Mb	>80%	~ 10 horas
2 × 75 bp	4M	600 Mb	>80%	~ 13 horas
2 × 150 bp	4M	1,2 Gb	>80%	~ 19 horas

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

b. É estabelecida uma média da porcentagem das bases >Q30 em toda a execução.

c. Os tempos abrangem a clusterização, o sequenciamento, a identificação de base e a pontuação de qualidade.

Preparação rápida de bibliotecas

O sistema iSeq 100 é compatível com o conjunto completo de kits de preparação de bibliotecas da Illumina. Com os kits de preparação de bibliotecas Nextera™ XT e Illumina DNA, os pesquisadores podem preparar bibliotecas multiplexadas em 3 a 4 horas para sequenciamento de genoma pequeno e de Amplicon direto de longo alcance. Além disso, a nova solução de ressequenciamento direcionado AmpliSeq™ for Illumina oferece conteúdo projetado com experiência. Os painéis direcionados AmpliSeq for Illumina estão disponíveis em painéis fixos prontos para usar, em painéis projetados pela comunidade ou em painéis personalizados para atender às 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, incluídas em parafina (FFPE), como tecido de tumor preservado.

Sequenciamento no sistema iSeq 100

Depois da preparação das bibliotecas, elas são carregadas em um cartucho de reagente descongelado e pré-preenchido para o sistema iSeq 100. Iniciar uma execução é fácil: descongelar, carregar e operar em cinco minutos (tempo total de trabalho efetivo). O sistema iSeq 100 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 de iniciação da execução, possibilitando que os pesquisadores façam várias aplicações de sequenciamento com treinamento mínimo do usuário e tempo mínimo de preparo.

Alta sensibilidade e precisão analítica com tecnologia de SBS

O sistema iSeq 100 emprega a comprovada tecnologia de SBS da Illumina, que é usada para gerar >90% dos dados de sequenciamento do mundo,³ para entregar dados de alta qualidade com >80% de bases em ou acima de Q30 (Tabela 1, Figura 3). Esse método reversível baseado em terminador 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 emprega a competição natural entre todos os quatro nucleotídeos identificados, reduzindo a tendenciosidade à incorporação e permitindo um sequenciamento mais preciso de regiões e homopolímeros repetidos.⁵ Comparado com o sequenciamento Sanger baseado em eletroforese capilar, o NGS consegue detectar uma faixa mais ampla de variantes de DNA, inclusive variantes de baixa frequência e variantes de fase adjacente, com um tempo mais rápido para obter resultados e menos etapas de processamento.^{1,2}

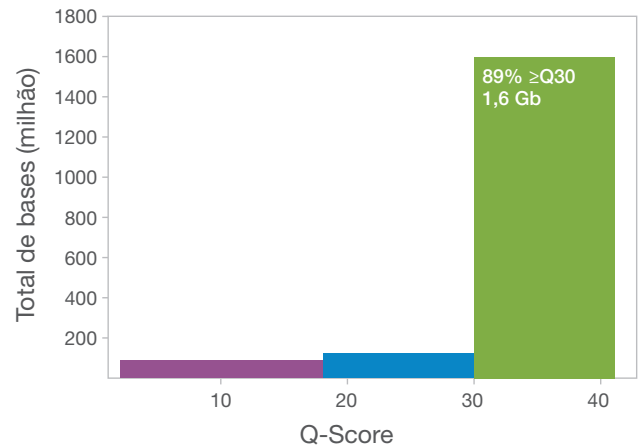


Figura 3: Pontuações de qualidade do sistema iSeq 100 — Pontuação de qualidade (Q-Score) é uma estimativa da probabilidade de um erro na identificação de base. Uma Q-Score de 30 (Q30) é amplamente considerada uma referência para dados de alta qualidade.⁴ Uma execução de pool microbiano no sistema iSeq 100 configurado em 2 × 151 bp rende mais de 89% de bases ≥Q30.

Química de SBS altamente inovadora de um canal

O sistema iSeq 100 usa a química comprovada de SBS da Illumina em uma lâmina de fluxo em padrão 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 de CMOS (pixel). A química exclusiva ExAmp garante que apenas um cluster se forme em cada nanoporo. O uso de um sensor de 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 etiqueta removível e é identificada apenas na primeira imagem. A citosina tem um grupo de vinculadores que podem ligar uma etiqueta e é identificada apenas na segunda imagem. A timina tem uma etiqueta fluorescente permanente e é, portanto, identificada em ambas as imagens e a guanina é escura permanentemente (não identificada).

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

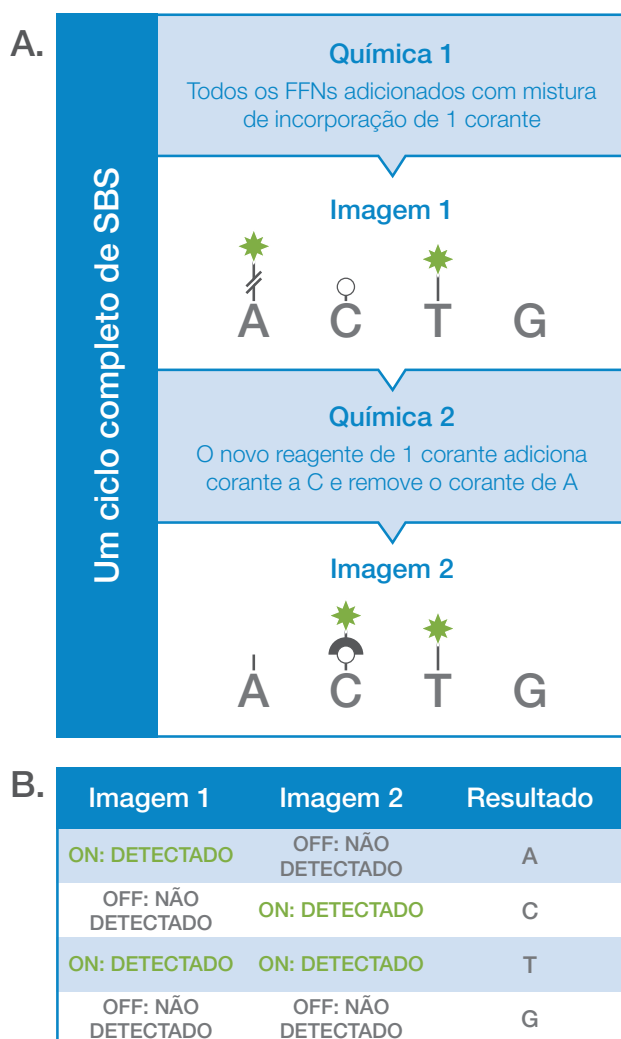


Figura 4: Química de SBS de um canal — (A) A química de SBS de um canal apresenta duas etapas químicas e duas etapas de geração de imagens por ciclo de sequenciamento utilizando nucleotídeos que podem ser identificados ou não, dependendo da etapa química. (B) A identificação de bases é determinada pelo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

Análise de dados fácil e flexível

O sistema iSeq 100 oferece várias opções de análise de dados, inclusive soluções dentro do instrumento e baseadas na nuvem. O Local Run Manager, um software de análise dentro do instrumento totalmente integrado, apresenta arquitetura modular para dar suporte a ensaios atuais e futuros. O Local Run Manager dá suporte ao planejamento de execuções de sequenciamento, ao controle de bibliotecas e execuções com trilhas de auditoria e à integração com módulo de análise de dados dentro do instrumento. Embora o Local Run Manager seja executado no computador do instrumento, os usuários podem monitorar o progresso da execução e exibir os resultados da análise de computadores remotos conectados à mesma rede. Depois de concluir uma execução 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 (SNVs), variantes estruturais, fazer 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 da Illumina. Devido aos formatos de dados padrão do setor, desenvolvedores externos criaram um rico ecossistema de aplicativos comerciais e de fonte aberta 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.

Versátil para dar suporte a uma ampla variedade de aplicações

Com uma saída máxima de 2,0 Gb, o sistema iSeq 100 oferece sequenciamento rápido e multiplexado a uma variedade de aplicações:

- Sequenciamento de genoma pequeno completo
- 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 de 16S)
- Sequenciamento direcionado de mRNA
- Sequenciamento de RNA pequeno
- Avaliação de vários genomas
- Tipagem de antígenos leucocitários humanos (HLA) com base em sequenciamento

Tabela 2: Exemplo de aplicações do sistema iSeq 100 e configurações de execução

Aplicação	Amostras/ Execução	Tempo de execução
Sequenciamento de genoma pequeno		
Genomas de 5-10 Mb, cobertura de 30x 2 × 150 bp	1-8	~ 19 horas
Identificação de perfil de expressão gênica direcionada		
Até 500 alvos 1 × 50 bp	1-48	~ 9 horas
Sequenciamento direcionado de amplicons		
Até 3.000 Amplicons 2 × 250 bp	1-48	~ 19 horas

Resumo

Embora o sistema iSeq 100 seja o menor instrumento do portfólio da Illumina, ele oferece grandes vantagens. Comparado com os sistemas de sequenciamento maiores ou com a terceirização, o sistema iSeq 100 oferece execuções 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 sistema iSeq 100 oferece um fluxo de trabalho integrado e com suporte completo. Com um preço acessível e pequeno espaço ocupado, o sistema iSeq 100 oferece a potência do NGS a praticamente qualquer laboratório, com praticamente qualquer orçamento.

Saiba mais

Para saber mais sobre o sistema iSeq 100, acesse www.illumina.com/iseq

Leia sobre mais aplicações do sistema iSeq 100 em www.illumina.com/systems/sequencing-platforms/iseq/learn

Para obter uma análise das perguntas frequentes, visite a [página Perguntas frequentes do Sistema iSeq 100](#)

Informações para pedido

Sistema	N.º do catálogo
Sistema de sequenciamento iSeq 100	20021535
Kits de reagentes para sequenciamento	N.º do catálogo
Reagente do iSeq 100i1 v2 (300 ciclos)	20031371
Reagente do iSeq 100i1 v2 (300 ciclos) - pacote com 4	20031374
Reagente do iSeq 100i1 v2 (300 ciclos) - pacote com 8	20040760

Referências

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. Cálculos de dados arquivados. Illumina, Inc., 2017.
4. Illumina (2011) *Quality Scores for Next-Generation Sequencing*. Acessado em 1º de dezembro de 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.

Especificações do sistema iSeq 100

Parâmetro	Especificação
Configuração do instrumento	Rastreamento de RFID para materiais de consumo
Computador de controle de instrumento (interno) ^a	Unidade base: Celeron J1900, 2 GHz, CPU Quad Core Memória: 8 GB RAM Disco rígido: 240 GB SSD Sistema operacional: Windows 10 IoT Enterprise
Ambiente de operação	Temperatura: 15 °C a 30 °C (22,5 °C ± 7,5 °C) Umidade: de 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 nm, 1,5 W/cm ² no plano de imagem
Dimensões	LxPxA (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 alimentação	90 a 264 VCA, 47 a 63 Hz 80 W
Identificador de radiofrequência (RFID)	Frequência: 13,56 MHz Potência: corrente de alimentação 120 mA, potência de saída de RF 200 mW
Especificações da WLAN	Frequência: 2,4 GHz e 5 GHz norma: IEEE 802.11a IEEE 802.11b IEEE 802.11g IEEE 802.11n IEEE 802.11ac Alimentação: 3,3 VCC, corrente de alimentação 780 mA
Conformidade e segurança do produto	Certificado pelo NRTL, IEC Marcação CE 61010-1 CE Aprovado pela FCC/IC

a. As especificações de computador estão sujeitas a alterações.

Plataformas de NGS inovadoras

A Illumina oferece uma ampla variedade de sistemas de sequenciamento de NGS, fornecendo dados de alta qualidade e precisão adaptados para satisfazer as necessidades de diversas aplicações. Você pode encontrar tabelas comparativas entre sistemas de bancada e de escala de produção e ferramentas para ajudar na escolha da plataforma adequada às suas necessidades em

www.illumina.com/systems