

スペックシート

iSeq™ 100 シーケンスシステム

最も小さく最も手頃な
イルミナシーケンスシステム

- 独立したオペレーションに対応するコスト効率の良いシステム
- 迅速なデータ生成と短いターンアラウンドタイム
- 高い分析感度を実現する非常に優れたデータ精度
- ライブラリー品質評価と概念実証 (Proof-of-Principle) 試験に最適

illumina®

はじめに

次世代シーケンサー (NGS) は、コンパクトなイルミナiSeq 100システムでより簡単でより手頃になります (図1)。iSeq 100システムは、相補型金属酸化膜半導体 (CMOS) テクノロジーと実証された精度のイルミナSequencing by Synthesis (SBS) ケミストリーを組み合わせており、短いターンアラウンドタイムで高精度なデータを生み出します。iSeq100システムは、ラン当たり1.2 Gb以上のデータを19時間で生成し、低頻度のバリエーションや転写産物の検出に必要な高い解像度と分析感度を実現します。^{1,2}

iSeq 100システムは小さな装置サイズですが、大きな利点があります。大きなシステムを必要とせず、速くてコスト効率の良い小規模のランが可能です。研究室にiSeq 100システムがあればハイスループットのシステムを使う場合や外注する場合のように最適なバッチサイズになるまでサンプルが集まるのを待つ必要はなく、ご自身の都合に合わせてランを実行できます。また、シーケンス処理を初めから終わりまで自分でコントロールできるため、サンプルの整合性とデータ解析結果における高い信頼度が得られます。お求めやすい価格のiSeq 100システムは、独立した小規模なNGS用のコスト効率の良いソリューションを実現します。

効率的な3ステップワークフロー

iSeq 100システムは、ライブラリー調製、シーケンス、データ解析からなる3ステップワークフローの一部です (図2)。



図1: iSeq 100システム: イルミナポートフォリオの中で最も購入しやすく、コンパクトなベンチトップシーケンスシステムでNGSのパワーを発揮します。

迅速なライブラリー調製

iSeq 100システムは、イルミナライブラリー調製キットで調製したライブラリーすべてに対応します。Nextera™ XTおよびIllumina DNA Prep Library Kitで、小さなゲノムや長いダイレクトアンプリコンシーケンス用のマルチプレックス化されたライブラリーを3~4時間で調製できます。また、AmpliSeq™ for Illuminaターゲットリシーケンスソリューションは、専門家によって設計されたコンテンツのすぐ使える設計済みパネル、コミュニティデザインパネル、個別の研究のニーズに合わせたカスタムパネルを提供します。イルミナライブラリー調製キットには、最少1 ngのインプットDNAまたはRNA (cDNA) からライブラリー調製ができるキットや、保存されていた腫瘍組織などのホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) サンプルから抽出したDNAでも使える柔軟性を持ったキットもあります。



図2: iSeq 100システムはDNAからデータ取得までの効率化されたワークフローの一部です。

iSeq 100システムでのシーケンス

予め試薬が充填されたiSeq 100システム用カートリッジを融解した後、調製後の二本鎖ライブラリーをカートリッジにロードします。ランの開始には試薬の融解、ロード、ランスタートという簡単な操作を行うだけであり、合計ハンズオンタイムはたった5分しかかかりません。iSeq 100システムでは、ライブラリーの変性ステップ、クローナル増幅、シーケンスおよびデータ解析を1つの装置に統合しているため、補助的な装置の購入は必要ありません。直感的なユーザーインターフェイスで、ランセットアップおよびラン開始プロセスの全ステップにガイダンスを提供するため、最少のユーザートレーニングと最少のセットアップ時間でさまざまなシーケンスアプリケーションを実施することができます。

SBSテクノロジーによる高い分析感度と精度

iSeq 100システムは、実証済みのイルミナSBSテクノロジーを採用し、シーケンスされた塩基の80%以上がQ30以上の高品質データを産出します(表1、図3)。可逆的ターミネーターによる手法は、DNA鎖に取り込まれる1塩基を検出し、数百万のDNA断片を並列シーケンスすることができます。イルミナSBSケミストリーは4つすべての標識ヌクレオチドの自然競争により取り込みのバイアスを減らし、繰り返し領域やホモポリマーのさらに精度の高いシーケンスを実現します。⁴ キャピラリー電気泳動によるSangerシーケンスと比較して、NGSはより迅速により少ないハンズオンステップで、低頻度バリエーションや隣接したフェージングバリエーション(相同染色体別のバリエーション)など、幅広いDNAバリエーションを検出することができます。

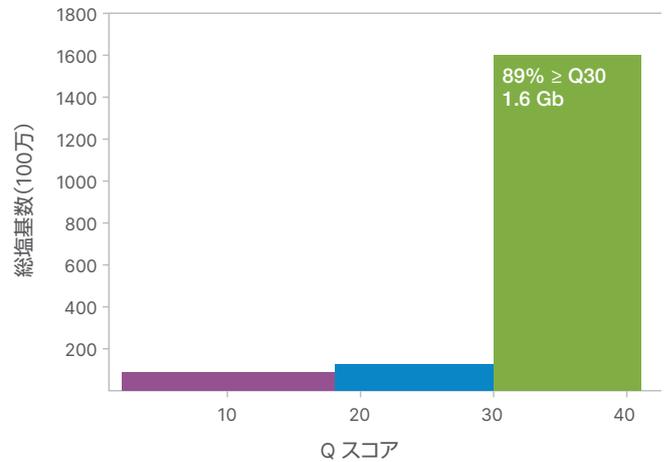


図3: iSeq 100システムクオリティスコア:クオリティスコア(Qスコア)は、ベースコーリングにおけるエラー確率の予測指標です。Qスコア30(Q30)は、高品質なデータの基準として広く認識されています。³ iSeq 100システムで151 bp × 2の微生物サンプルプールランでは、シーケンスされた塩基の89%以上がQ30以上を示しました。

革新的な1色法SBSケミストリー

iSeq 100システムは、CMOSチップ上に作製されたナノウェルを備えたパターン化フローセル内で、実証済みのイルミナSBSケミストリーを使用し、1色法シーケンスケミストリーを実現します。各CMOS光ダイオード(pixel)上に直接並べられたナノウェル内で、クラスタリングとシーケンスが実施されます。専用のExAmpケミストリーによって、各ナノウェルに1クラスターのみを形成します。消耗品に組み込まれたCMOSセンサーを使うことで、シンプルかつ迅速な検出方法を実現しています。

表1: iSeq 100システムのスペック^a

ラン構成 ^b	リードPF/ラン	出力	クオリティスコア ^c	ランタイム ^d
36 bp × 1	400万	144 Mb	85%以上	~9.5時間
50 bp × 1	400万	200 Mb	85%以上	~10時間
75 bp × 1	400万	300 Mb	80%以上	~11時間
75 bp × 2	400万	600 Mb	80%以上	~14時間
150 bp × 2	400万	1.2 Gb	80%以上	~19時間

- a. パフォーマンス項目は、サンプルの種類、サンプルのクオリティ、そしてパスフィルタークラスター(PF)に依存します。
- b. iSeq 100 i1 Reagent v2 (300-cycle)キットの共通の構成です。
- c. Q30以上の塩基の割合は、そのラン全体の平均値です。
- d. 時間はクラスター形成、シーケンス、ベースコーリング、およびクオリティスコアリングの測定を含みます。

1色法SBSケミストリーでは、1色の色素を使い、各シーケンスサイクルで2回のケミストリーステップを経て2つのイメージを取得します(図4)。2つのイメージの各塩基の異なる励起パターンを解析することでヌクレオチドを同定します。アデニンの除去される標識を持ち、1回目のイメージ取得の時だけ蛍光標識されています。シトシンは蛍光標識と結合するリンカーグループを保有しており、2回目のイメージ取得の時だけ蛍光標識されています。チミンは常に蛍光標識を保有するため両方のイメージ取得の際に蛍光が検出され、グアニンは常に暗いまです(非標識)。



1色法SBSケミストリーに関する詳細な情報は、『[Illumina CMOS Chip and One-Channel SBS Chemistry technical note](#)』をご覧ください。

簡単に柔軟なデータ解析

iSeq 100システムはさまざまなデータ解析オプションがあり、装置搭載型とクラウド型のソリューションがあります。Local Run Managerは完全に統合された装置搭載型の解析ソフトウェアであり、モジュール構造となっているため、現在だけでなく将来のアクセシビリティをサポートすることが可能です。Local Run Managerはシーケンスランの計画、ライブラリー、監査証跡によるランの追跡をサポートし、オンボードのデータ解析モジュールを統合します。Local Run Managerが装置のコンピューター上で稼働している間、ユーザーは同じネットワークにつながったリモートコンピューターからランの経過をモニターでき、解析結果を閲覧することができます。シーケンスランの完了後、Local Run Managerはアプリケーションごとの解析モジュールを使って自動的にデータ解析を開始します。各モジュールはデータのアライメント、1塩基変異(SNV)、構造多型の同定、発現解析、small RNA解析などを行うことができます(表2)。

また、シーケンスデータは、イルミナのゲノムコンピューティング環境であるBaseSpace™ Sequence Hubに随時転送され、解析、保存することもできます。業界標準のデータフォーマットを採用しているため、サードパーティの開発者らが開発した商用およびオープンソースのアプリがBaseSpace Sequence Hub内で提供されており、下流データ解析に利用できる豊富なエコシステムを構築しています。これらのアプリを使えば、自動化したアルゴリズムにより、全ゲノムデータ、エクソームデータ、トランスクリプトームデータおよびターゲットリシーケンスデータに対してアライメント、バリエーション検出、アノテーション情報の付加、視覚化などを実施することができます。

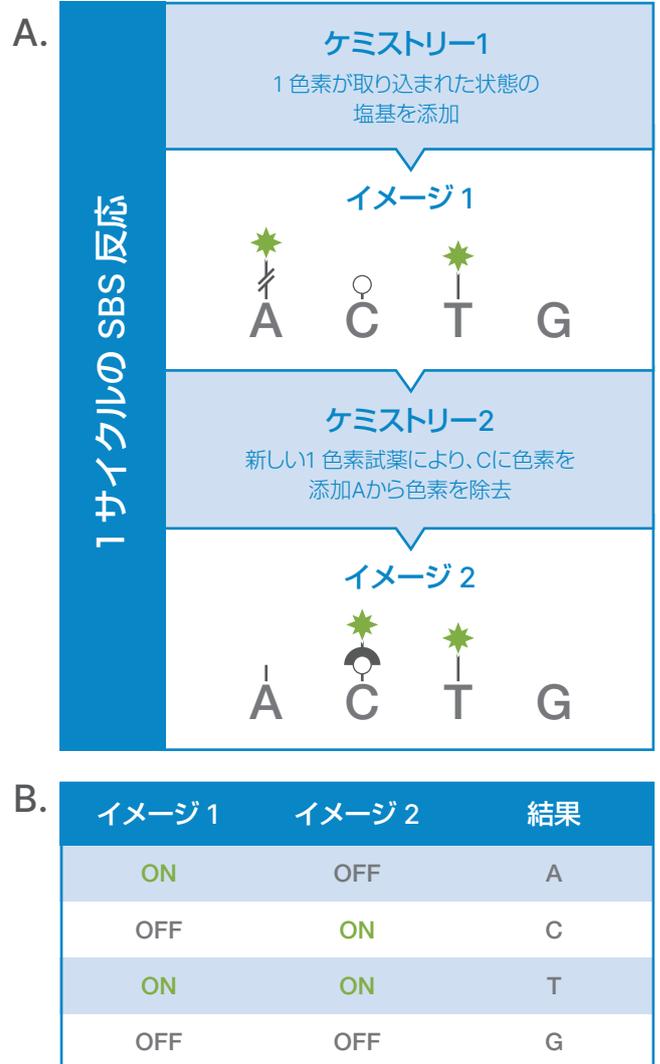


図4: 1色法SBSケミストリー: (A) 1色法SBSケミストリーでは、シーケンス1サイクル当たり、2回のケミストリーステップと2回のイメージングステップを実施します。いずれかのケミストリーステップで標識されるまたは標識されないヌクレオチドを用います。(B) ベースコールは両方のイメージのシグナルパターンを用いて決定します。

幅広いアプリケーション

最長のリード長の場合、1.2 Gbの最小出力によって、iSeq 100システムは次のような幅広いアプリケーションに対して迅速なマルチプレックスシーケンスを提供します：

- 小さなゲノムの生物種の全ゲノムシーケンス
- ターゲットリシーケンス
 - AmpliSeq for Illuminaによるターゲットリシーケンス
 - ロングレンジPCR
- *de novo*シーケンス
- 遺伝子編集のバリデーション
- メタゲノム (16S rRNAシーケンシング)
- ターゲットmRNAシーケンス
- Small RNAシーケンス
- Multiple genome assessment
- ヒト白血球抗原 (HLA) のシーケンスベースのタイピング

表2：アプリケーション例とラン構成例

アプリケーション	サンプル数/ラン	ランタイム
全ゲノムシーケンス (ゲノムサイズの小さい生物) 5~10 Mbゲノム、 30×カバレッジ、150 bp × 2	1~8	~19時間
ターゲット遺伝子発現 プロファイリング 最大500ターゲット 50 bp × 1	1~48	~9.5時間
ターゲットアンプリコンシーケンス 最大3,000アンプリコン 150 bp × 2	1~48	~19時間

まとめ

iSeq 100システムは、イルミナポートフォリオの中で最も小さい装置ですが、大きなアドバンテージを提供します。大型のシーケンスシステムや外注と比べると、iSeq 100システムは、迅速でコスト効率良く小規模のランを、外注せずにご自身の研究室で、シーケンスプロセスの初めから終わりまでをコントロールできます。さらに、幅広いライブラリー調製キット、シーケンス、そして使いやすいデータ解析を網羅した包括的なソリューションの一環として、iSeq 100システムは、最初から最後までサポートされ、統合されたワークフローを提供します。お手頃な価格と小さな装置サイズにより、iSeq 100システムは、現実的な予算で、あらゆる研究室にNGSのパワーをもたらします。

詳細はこちら

iSeq 100シーケンスシステム：jp.illumina.com/iseq

iSeqシステム用のアプリケーション：jp.illumina.com/systems/sequencing-platforms/iseq/applications.html

よくある質問と回答：[iSeq 100システムFAQページ](#)

参考文献

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. Published 2011. Accessed February 2, 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システム仕様

パラメーター	仕様
装置の構成	RFIDトラッキング機能付きの試薬消耗品
装置コントロール コンピューター (内蔵)	ベースユニット: Celeron J1900、 2 GHz、Quad Core CPU メモリー: 8 GB RAM ハードドライブ: 240 GB SSD オペレーティングシステム: Windows 10 IoT Enterprise
動作環境	温度: 15°C~30°C (22.5°C ± 7.5°C) 湿度: 結露なきこと、20~80%の相対湿度 高度: 2,000 m (6,500 ft) 以下 空気室: 汚染度評価 II 換気: 最大2,048 BTU/時@600 W 屋内で使用のこと
発光ダイオード (LED)	520 nm、イメージ平面で1.5 W/cm ²
寸法	幅×奥行×高さ (モニターを上げた状態): 30.5 cm × 33 cm × 42.5 cm (12.0 in × 13.0 in × 16.7 in) 重量: 16 kg (35 lbs) 梱包重量: 21 kg (47 lbs)
電源要件	100~240 VAC@50/60Hz 80 W
無線自動識別装置 (RFID)	周波数: 13.56 MHz 電源: 供給電流120 mA、 RF出力200 mW
WLAN仕様	周波数: 2.4 GHzおよび4 GHz標準 IEEE 802.11a IEEE 802.11b IEEE 802.11g IEEE 802.11n IEEE 802.11aC 電源: 3.3 VDC、供給電流780 mA
製品安全性および準拠	NRTL認証 IEC 61010-1 CEマーク取得 FCC/IC認証
a. コンピューターの仕様は定期的に更新されます。最新の構成についてはお問い合わせください。	

製品情報

システム	カタログ番号
iSeq 100シーケンスシステム	20021535
シーケンス試薬キット名	カタログ番号
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

イルミナ株式会社

〒108-0014 東京都港区芝 5-36-7 三田ベルジュビル 22 階
Tel (03) 4578-2800 Fax (03) 4578-2810
jp.illumina.com

 www.facebook.com/illuminakk

販売店

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。 販売条件：jp.illumina.com/tc

© 2023 Illumina, Inc. All rights reserved.

すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc. または各所有者に帰属します。
商標および登録商標の詳細は jp.illumina.com/company/legal.html をご覧ください。
予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。

illumina[®]