

iSeq™ 100 시퀀싱 시스템

작고 합리적인 가격의
Illumina 시퀀싱 시스템

- 독립적인 운영에 알맞은 비용 대비 효율적인 시스템
- 짧은 시간 안에 신속한 데이터 생성
- 높은 분석 민감도를 위한 우수한 데이터 정확도
- 편리한 라이브러리 품질 평가 및 원리 증명 (proof-of-principle) 테스트

illumina®

소개

ILLUMINA의 소형 시퀀싱 시스템인 iSeq 100 시스템은 연구자가 차세대 시퀀싱(next-generation sequencing, NGS)을 더 쉽고 합리적인 가격에 이용할 수 있게 해 줍니다(그림 1). iSeq 100 시스템은 상보형 금속산화 반도체(complementary metal-oxide semiconductor, CMOS) 기술과 입증된 ILLUMINA의 sequencing by synthesis(SBS) chemistry가 제공하는 정확성을 결합하여 짧은 시간 안에 정확도가 높은 데이터를 제공합니다. iSeq 100 시스템은 19시간 내에 런(run)당 최소 1.2 Gb의 데이터를 생성하고 희귀 변이 및 전사물(transcript)의 검출에 요구되는 높은 해상도 및 분석 민감도(sensitivity)를 제공합니다.^{1,2}

iSeq 100 시스템은 설치에 작은 공간만을 필요로 하지만, 제공하는 장점은 많습니다. 연구자는 더 큰 시스템을 마련할 필요 없이 iSeq 100 시스템을 사용해 비용 대비 효율적으로 신속하게 소규모 런을 수행할 수 있고, 검사실에서는 고처리량 시스템에 최적화된 크기의 배치(batch)를 기다리거나 외부에 위탁할 필요 없이 원하는 일정에 맞춰 런을 수행할 수 있습니다. 또한 연구자가 시퀀싱 프로세스를 처음부터 끝까지 제어할 수 있으므로 샘플 무결성과 데이터 분석 결과에 대한 신뢰도가 높아집니다. 거의 모든 검사실에서 부담할 수 있는 가격의 iSeq 100 시스템은 독립적으로 소규모 NGS 수행 시 비용 대비 효율적인 솔루션을 제공합니다.

간소한 3단계 워크플로우

iSeq 100 시스템은 라이브러리 준비, 시퀀싱 그리고 데이터 분석으로 이루어진 간소한 3단계 워크플로우의 한 구성 요소입니다(그림 2).



그림 1: iSeq 100 시스템 — NGS의 강력한 기능을 ILLUMINA 시퀀싱 시스템 중 가장 합리적인 가격으로 제공하는 소형 벤치탑 시퀀싱 시스템

신속한 라이브러리 준비

iSeq 100 시스템에는 ILLUMINA의 모든 library prep kit를 사용할 수 있습니다. 연구자는 ILLUMINA DNA Prep Kit와 Nextera™ XT DNA Library Prep Kit를 사용하여 3~4시간 내에 작은 유전체 시퀀싱과 직접적인 긴 앰플리콘 시퀀싱(long-range amplicon sequencing)에 적합한 멀티플렉싱(multiplexing)된 라이브러리를 준비할 수 있습니다. 또한 AmpliSeq™ for ILLUMINA Targeted Resequencing Solution은 즉시 사용이 가능한 고정 패널, 커뮤니티 설계 패널 또는 특정 연구 요구 사항을 충족하는 맞춤형 패널에 담긴 전문적으로 설계된 콘텐츠를 제공합니다. ILLUMINA의 library prep kit는 키트에 따라 최소 1 ng의 DNA 또는 RNA(cDNA)만을 요구하며, 보존된 종양 조직 등 포르말린 고정 파라핀 내장(formalin-fixed, paraffin-embedded, FFPE) 샘플에서 추출한 DNA를 지원하는 유연성도 갖추고 있습니다.



그림 2: DNA 샘플 준비부터 데이터 생성까지 전 단계를 아우르는 간소한 워크플로우의 한 구성 요소인 iSeq 100 시스템

iSeq 100 시스템을 이용한 시퀀싱

라이브러리 준비되면, 이중 가닥(double-stranded) 라이브러리를 미리 해동해 둔 사전 충전된 시약 카트리지에 넣은 후 iSeq 100 시스템에 장착합니다. 해동 후 장착만 하면 간편하게 런을 시작할 수 있고, 수작업 시간은 단 5분밖에 걸리지 않습니다. iSeq 100 시스템을 이용하면 라이브러리 변성(denaturation), 클론 증폭(clonal amplification), 시퀀싱 그리고 데이터 분석을 모두 한 대의 기기에서 해결할 수 있으므로 보조 장비를 따로 구매하지 않아도 됩니다. 또 직관적인 사용자 인터페이스를 통해 런 설정 및 런 시작 프로세스에 걸쳐 단계별 지침을 제공하므로 연구자가 간단한 교육을 받은 후 설정에 적은 시간을 투자하여 다양한 시퀀싱 애플리케이션을 수행할 수 있습니다.

SBS 기술이 제공하는 높은 분석 민감도 및 정확도

iSeq 100 시스템은 입증된 Illumina의 SBS 기술을 채택하여 80%가 넘는 염기의 Q-Score(quality score, 품질 점수)가 Q30 이상인 고품질의 데이터를 제공합니다(표 1, 그림 3). 이 가역적 종결자(reversible terminator)를 이용한 시퀀싱 방법은 단일 염기(base)가 길어지는 DNA 가닥에 결합될 때 이를 감지하고, 수백만 개의 DNA 절편에 대한 대규모 병렬 시퀀싱(massively parallel sequencing)을 가능하게 합니다. Illumina의 SBS 기술은 4종류의 표지된 뉴클레오티드(nucleotide)가 서로 자연스럽게 경쟁하도록 하여 삽입 편향(incorporation bias)을 줄이고 보다 정확한 반복 시퀀싱 영역 및 동중중합체(homopolymer)의 시퀀싱을 지원합니다.⁴ NGS는 모세관 전기영동(capillary electrophoresis) 기반의 생어(Sanger) 시퀀싱에 비해 저빈도 변이(low-frequency variant), 인접 페이징된 변이(adjacent phased variant) 등 더 많은 DNA 변이를 검출할 수 있으며, 더 짧은 시간 안에 결과를 도출하고, 더 적은 수작업 단계를 요구합니다.

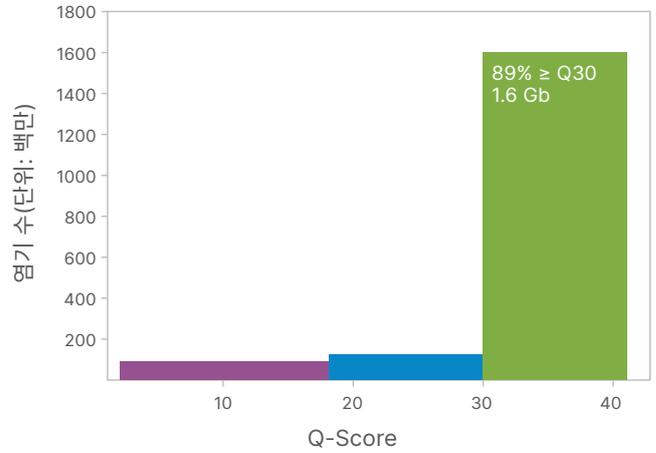


그림 3: iSeq 100 시스템의 Q-Score — Q-Score는 부정확한 베이스 콜링(base calling)의 발생 확률을 예측한 값이며, Q30(Q-Score 30점)은 고품질 데이터의 기준으로 널리 사용되고 있음.³ iSeq 100 시스템을 이용해 2 × 151 bp로 미생물 풀(pool)을 시퀀싱할 경우 89%가 넘는 염기의 Q-Score가 Q30 이상인 것을 확인할 수 있음.

혁신적인 1채널 SBS chemistry

iSeq 100 시스템은 CMOS 칩에 조립된 수많은 나노웰(nanowell)이 들어 있는 패턴화된 플로우 셀(flow cell)에 입증된 Illumina의 SBS chemistry를 적용한 1채널 시퀀싱 chemistry를 제공합니다. 클러스터링(Clustering)과 시퀀싱은 각각의 CMOS 광다이오드(photodiode, 즉 픽셀) 바로 위에 정렬되어 있는 이 나노웰 안에서 이루어집니다. 독점적으로 개발된 ExAmp chemistry가 나노웰별로 단 하나의 클러스터만 형성되도록 해 줍니다. 소모품에 내장되어 있는 CMOS 센서를 사용하면 쉽고 빠르게 검출을 실행할 수 있습니다.

표 1: iSeq 100 시스템의 성능 파라미터^a

런 구성 ^b	런당 PF 리드 수	데이터 아웃풋	Q-Score ^c	런 타임 ^d
1 × 36 bp	4M	144 Mb	> 85%	약 9.5시간
1 × 50 bp	4M	200 Mb	> 85%	약 10시간
1 × 75 bp	4M	300 Mb	> 80%	약 11시간
2 × 75 bp	4M	600 Mb	> 80%	약 14시간
2 × 150 bp	4M	1.2 Gb	> 80%	약 19시간

a. 성능 파라미터는 샘플의 종류, 샘플 품질, 필터를 통과(passing filter, PF)하는 클러스터에 따라 상이할 수 있음.
 b. 일반적으로 사용되는 iSeq 100 i1 Reagent v2(300-cycle) 키트의 구성
 c. 전체 런에 걸쳐 Q30 이상인 염기의 백분율의 평균을 산출한 값
 d. 런 타임에는 클러스터 생성, 시퀀싱, 베이스 콜링 및 품질 채점에 소요되는 시간이 포함됨.

1채널 SBS chemistry는 시퀀싱 사이클(cycle)당 하나의 염료, 두 개의 chemistry 단계, 두 장의 이미지를 사용합니다(그림 4). 뉴클레오티드는 두 장의 이미지에서 각 염기의 서로 다른 방출(emission) 패턴을 분석하여 식별합니다. 아데닌(Adenine, A)은 제거 가능한 표지를 가지고 있으며 첫 번째 이미지에서만 표시됩니다. 사이토신(Cytosine, C)은 표지를 결합할 수 있는 링커(linker) 그룹을 가지고 있으며 두 번째 이미지에서만 표시됩니다. 티민(Thymine, T)은 영구적인 형광 표지를 가지고 있으므로 두 장의 이미지에서 표시됩니다. 구아닌(Guanine, G)은 표시되지 않고 영구적으로 어둡게 나타납니다.

 1채널 SBS chemistry에 관한 더 자세한 내용은 [Illumina CMOS Chip and One-Channel SBS Chemistry Technical Note](#)를 확인하시기 바랍니다.

쉽고 유연한 데이터 분석

iSeq 100 시스템은 온보드 솔루션과 클라우드 기반 솔루션 등 다양한 데이터 분석 옵션을 제공합니다. 완전히 통합된 온보드 분석 소프트웨어인 Local Run Manager는 기존의 assay와 앞으로 개발될 assay를 지원할 수 있도록 모듈식 아키텍처로 설계되어 있습니다. Local Run Manager는 시퀀싱 런 계획, Audit Trail 기능을 통한 라이브러리 및 런 추적, 온보드 데이터 분석 모듈 통합을 지원합니다. Local Run Manager는 기기 컴퓨터에서 실행되므로 이 소프트웨어를 사용하면 여러 사용자가 동일한 네트워크에 연결된 원격 컴퓨터를 통해 런 진행 상황을 모니터링하고 분석 결과를 확인할 수 있습니다. 시퀀싱 런이 완료되면 Local Run Manager가 애플리케이션에 특화된 분석 모듈 중 하나를 사용하여 자동으로 데이터 분석을 시작합니다. 이 모듈은 정렬(alignment) 데이터를 생성하고 단일 염기서열 변이(single nucleotide variant, SNV) 및 구조적 변이(structural variant, SV)를 식별하며 유전자 발현(gene expression) 분석, small RNA 분석 등 다양한 분석을 수행할 수 있습니다(표 2).

또는 시퀀싱 데이터를 Illumina의 유전체학 클라우드 컴퓨팅 환경인 BaseSpace™ Sequence Hub에 바로 전송한 후 분석하고 저장할 수도 있습니다. 업계 표준 데이터 형식이 사용되므로 BaseSpace Sequence Hub를 통해 외부 업체에서 개발한 다양한 상용 및 오픈 소스 후속 데이터 분석 앱을 사용할 수 있습니다. 이러한 앱은 전장 유전체 시퀀싱, 엑솜(exome) 시퀀싱, 전사체(transcriptome) 시퀀싱 및 표적 재시퀀싱(targeted resequencing) 데이터의 정렬, 변이 검출, 어노테이션(annotation, 주석 처리), 데이터 시각화 등에 활용할 수 있는 자동화된 알고리즘을 제공합니다.

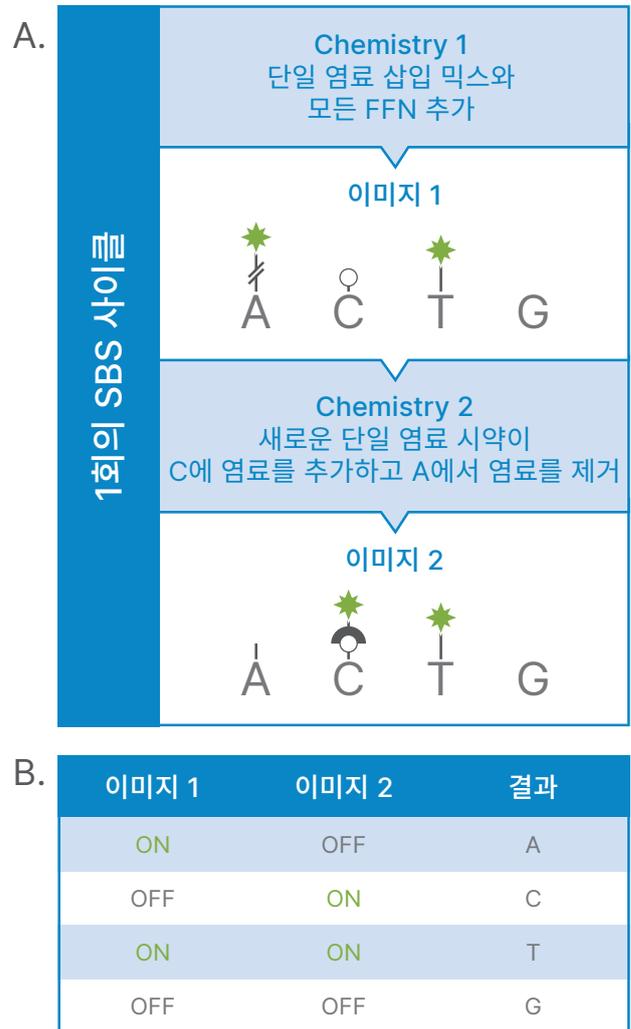


그림 4: 1채널 SBS chemistry — (A) 1채널 SBS chemistry는 chemistry 단계에 따라 표시되거나 표시되지 않는 뉴클레오티드를 사용하여 시퀀싱 사이클당 두 번의 chemistry 단계와 두 번의 이미징 단계를 거칩. (B) 베이스 콜(Base call)은 두 장의 이미지에서 측정된 신호 패턴에 따라 결정됨.

광범위한 애플리케이션

지원되는 최장 리드 길이(read length)로 최소 1.2 Gb의 데이터를 생성하는 iSeq 100 시스템은 다음과 같이 다양한 애플리케이션에 적합한 신속한 멀티플렉싱된 시퀀싱 방법을 사용합니다.

- 작은 전장 유전체 시퀀싱(whole-genome sequencing, WGS)
- 표적 재시퀀싱
 - AmpliSeq for Illumina Targeted Resequencing Solution
 - Long-range PCR(긴 사이즈 PCR)
- De novo 시퀀싱
- 유전자 편집 밸리데이션(Gene editing validation)
- 메타지노믹스(Metagenomics) 시퀀싱(예: 16S rRNA 시퀀싱)
- 표적 mRNA 시퀀싱
- Small RNA 시퀀싱
- 다중 유전체 평가
- 인간 백혈구 항원(human leukocyte antigen, HLA) 시퀀싱 기반의 형별 검사(typing)

표 2: 애플리케이션 및 런 구성의 예시

애플리케이션	런당 샘플 수	런 타임
작은 유전체 시퀀싱 5~10 Mb의 유전체, 30× 커버리지(coverage), 2 × 150 bp	1~8개	약 19시간
표적 유전자 발현 프로파일링 최대 500개의 표적 1 × 50 bp	1~48개	약 9.5시간
표적 애플리곤 시퀀싱 최대 3,000개의 애플리곤 2 × 150 bp	1~48개	약 19시간

요약

iSeq 100 시스템은 Illumina의 포트폴리오 중 크기는 가장 작을 기이지만 많은 장점을 제공합니다. 더 큰 시퀀싱 시스템을 사용하거나 외부 업체에 시퀀싱을 의뢰하는 경우와 비교해 볼 때, iSeq 100 시스템을 이용하면 비교적 빠르고 비용 대비 효율적으로 소규모 런을 수행할 수 있고, 외부 업체에 분석을 의뢰하지 않아도 되며, 시퀀싱 프로세스를 처음부터 끝까지 모두 제어할 수 있습니다. iSeq 100 시스템은 다양한 종류의 library prep kit, 시퀀싱 그리고 사용이 용이한 데이터 분석 프로세스를 모두 지원하는 종합적인 솔루션의 한 구성 요소로서 완전히 지원되고 통합된 워크플로우를 제공합니다. iSeq 100 시스템은 합리적인 가격으로 제공되며 작은 설치 공간만을 요구하므로 거의 모든 검사실에서 예산에 크게 구애받지 않고 NGS를 도입할 수 있게 해 줍니다.

더 알아보기

iSeq 100 시퀀싱 시스템: illumina.com/iseq

iSeq 시스템의 다양한 애플리케이션: illumina.com/systems/sequencing-platforms/iseq/applications.html

자주 묻는 질문: [iSeq 100 시스템 FAQ 페이지](#)

참고 문헌

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 시스템의 사양

파라미터	사양
기기 구성	RFID 소모품 추적 기능
기기 제어 컴퓨터(내장)	베이스 유닛: Celeron J1900 2 GHz Quad Core CPU 메모리: 8 GB RAM 드라이브: 240 GB SSD OS: Windows 10 IoT Enterprise
운영 환경	온도: 15~30°C(22.5°C ± 7.5°C) 습도: 비응축 상대 습도 20~80% 고도: 2,000 m 미만 공기질: 오염 등급 II 환기: 최대 2,048 BTU/시간(600 W) 실내 전용 기기
LED	520 nm, 1.5 W/cm ² (이미지 평면에서 측정 시)
규격	너비 × 깊이 × 높이(모니터 세운 상태): 30.5 cm × 33 cm × 42.5 cm 무게: 16 kg 패키지 무게: 21 kg
전력 요구 사항	AC 100~240 V(50/60 Hz) 80 W
RFID 장치	주파수: 13.56 MHz 전력: 공급 전류 120 mA, RF 출력 전력 200 mW
WLAN 사양	주파수: 2.4 GHz 및 4 GHz 표준 IEEE 802.11a IEEE 802.11b IEEE 802.11g IEEE 802.11n IEEE 802.11aC 전력: DC 3.3 V, 공급 전류 780 mA
제품 안전 및 규정 준수	NRTL 인증 IEC 61010-1 CE 마크 획득 FCC/IC 승인

a. 컴퓨터 사양은 변경될 수 있음.

제품 목록

시스템	카탈로그 번호
iSeq 100 Sequencing System	20021535
시퀀싱 시약 키트	카탈로그 번호
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

illumina®

무료 전화(한국) 080-234-5300
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. All rights reserved.
모든 상표는 Illumina, Inc. 또는 각 소유주의 자산입니다.
특정 상표 정보는 www.illumina.com/company/legal.html을 참조하십시오.
M-GL-00456 v1.0 KOR