

Sistema iSeq™ 100

El sistema de secuenciación más pequeño y económico de Illumina ofrece una secuenciación rápida y eficiente para prácticamente cualquier laboratorio.

Puntos destacados

- Generación rápida de datos**
 Lleve a cabo proyectos pequeños en un instrumento exclusivo para secuenciación con tiempos de procesamiento rápidos.
- Comprobaciones prácticas de la calidad de las bibliotecas y de viabilidad**
 Evalúe la calidad de las bibliotecas antes de realizar experimentos grandes, realice estudios preliminares o genere datos para la solicitud de financiación.
- Operaciones cómodas e independientes**
 Dirija el proceso de secuenciación de principio a fin y mantenga un calendario independiente sin necesidad de recurrir a la contratación externa.
- Precisión de datos excepcional**
 Saque provecho de una sensibilidad analítica mayor para detectar variantes y transcripciones infrecuentes en comparación con la qPCR o la secuenciación de Sanger.



Introducción

La secuenciación de nueva generación (NGS) es más sencilla y más asequible con el sistema compacto iSeq 100 de Illumina (figura 1). El sistema iSeq 100 combina la tecnología de semiconductor complementario de óxido metálico (CMOS) con la exactitud probada del proceso químico de secuenciación por síntesis (SBS, por sus siglas en inglés) de Illumina, con lo que consigue ofrecer datos de gran precisión y tiempos de procesamiento rápidos. El sistema iSeq 100 genera hasta 1,2 Gb de datos por experimento en 19 horas y consigue la alta resolución y la sensibilidad analítica necesarias para la detección de variantes y transcripciones infrecuentes.^{1,2}

A pesar de que el sistema iSeq 100 ocupa muy poco espacio, las ventajas que ofrece son grandes. Posibilita la realización rápida y rentable de experimentos a pequeña escala sin la necesidad de utilizar sistemas más grandes. Con un sistema iSeq 100 en el laboratorio, los investigadores pueden llevar a cabo experimentos cuando les convenga sin necesidad de esperar a reunir el tamaño óptimo de lote que exigen los sistemas de mayor rendimiento ni verse obligados a enviarlos a otro laboratorio. Asimismo, los investigadores pueden llevar el control del proceso de secuenciación de principio a fin, lo que les otorga una mayor

Figura 1: Sistema iSeq 100. El sistema iSeq 100 emplea la potencia de la NGS en el sistema de secuenciación de sobremesa más compacto y asequible de la gama de soluciones de Illumina.

confianza en la integridad de las muestras y en los resultados del análisis de los datos. Con un precio de venta que resulta asequible para prácticamente cualquier laboratorio, el sistema iSeq 100 representa una solución rentable para llevar a cabo secuenciación de nueva generación de manera independiente y a pequeña escala.

Flujo de trabajo optimizado en tres pasos

El sistema iSeq 100 forma parte de un flujo de trabajo optimizado en tres pasos que incluye la preparación de bibliotecas, la secuenciación y el análisis de los datos (figura 2).



Figura 2: flujo de trabajo del sistema iSeq 100. El sistema iSeq 100 forma parte de un flujo de trabajo optimizado de obtención de datos a partir de ADN.

Tabla 1: Parámetros de rendimiento del sistema iSeq 100^a

Configuración del experimento	Lecturas que superan el filtro (PF)/experimento	Rendimiento	Puntuaciones de calidad ^b	Duración del experimento ^c
1 × 36 pb	4 millones	144 Mb	>85 %	Aprox. 9 horas
1 × 50 pb	4 millones	200 Mb	>85 %	Aprox. 9 horas
1 × 75 pb	4 millones	300 Mb	>80 %	Aprox. 10 horas
2 × 75 pb	4 millones	600 Mb	>80 %	Aprox. 13 horas
2 × 150 pb	4 millones	1,2 Gb	>80 %	Aprox. 19 horas

a. Los parámetros de rendimiento pueden variar en función del tipo y la calidad de la muestra y de los grupos que superen el filtro.

b. En todo el experimento se promedia un porcentaje de bases por encima de Q30.

c. Los tiempos incluyen la generación de grupos, la secuenciación, la llamada de bases y la puntuación de calidad.

Preparación rápida de bibliotecas

El sistema iSeq 100 es compatible con el paquete completo de kits de preparación de bibliotecas de Illumina. Con los kits de preparación de bibliotecas de ADN de Illumina y Nextera™ XT, los investigadores pueden preparar bibliotecas multiplexadas en 3 o 4 horas para la secuenciación de genomas de pequeño tamaño y la secuenciación directa de rango largo de amplicones. Asimismo, la solución de resecuenciación selectiva AmpliSeq™ for Illumina ofrece contenido diseñado por expertos. Los paneles selectivos de AmpliSeq for Illumina están disponibles en paneles fijos listos para usar, en paneles diseñados de manera colectiva o en paneles personalizados para satisfacer las necesidades de investigación. En función del kit, los kits de preparación de bibliotecas de Illumina pueden necesitar tan solo 1 ng de aporte de ADN o ARN (ADNc) y tienen la flexibilidad de admitir ADN extraído de muestras fijadas en formol y embebidas en parafina (FFPE), como tejido tumoral con conservante.

Secuenciación en el sistema iSeq 100

Tras la preparación de las bibliotecas, estas se cargan en un cartucho de reactivo descongelado y precargado para el sistema iSeq 100. Comenzar un experimento es tan fácil como descongelar, cargar y todo está listo en cinco minutos (tiempo total de participación activa). El sistema iSeq 100 incorpora los pasos de desnaturalización, la amplificación clónica, la secuenciación y el análisis de los datos en un único instrumento, eliminando la necesidad de adquirir equipo auxiliar. La intuitiva interfaz de usuario sirve de guía durante cada paso de la preparación del experimento y de los procesos de inicio de este, lo que permite a los investigadores realizar varias aplicaciones de secuenciación con una formación del usuario y un tiempo de preparación mínimos.

Elevada sensibilidad analítica y exactitud gracias al proceso químico con tecnología de secuenciación por síntesis

El sistema iSeq 100 emplea la tecnología demostrada de secuenciación por síntesis de Illumina, que se utiliza para generar más del 90 % de los datos de secuenciación del mundo³ y que ofrece datos de gran calidad con más del 80 % de las bases igual a o por encima de Q30 (tabla 1, figura 3). Este método basado en terminadores reversibles detecta bases individuales a medida que se incorporan a cadenas de ADN en crecimiento y permite la secuenciación paralela de millones de fragmentos de ADN. Los procesos químicos de SBS de Illumina aprovechan la competencia natural entre los cuatro nucleótidos etiquetados para reducir la tendencia a la incorporación y favorecer una secuenciación más exacta de regiones repetitivas y homopolímeros.⁵ En comparación con la secuenciación de Sanger basada en la electroforesis capilar, la NGS puede detectar muchas variantes más de ADN, incluidas las variantes de baja frecuencia y las variantes ordenadas adyacentes, todo más rápidamente y con menos tiempo de participación activa por parte del usuario.^{1,2}

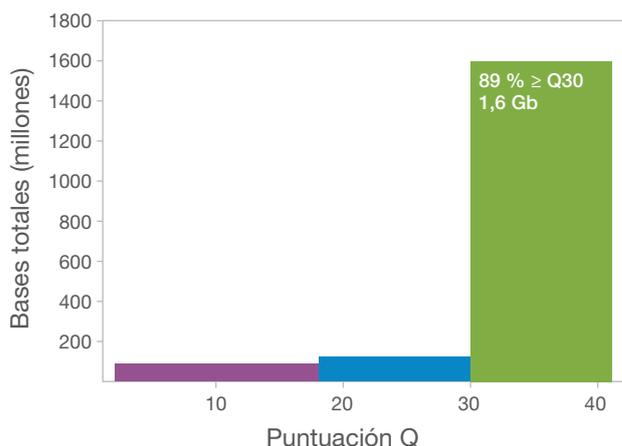


Figura 3: puntuaciones de calidad del sistema iSeq 100. Una puntuación de calidad (puntuación Q) es una predicción de la probabilidad de un error en la llamada de bases. Una puntuación Q de 30 (Q30) se considera el punto de referencia para la obtención de datos de alta calidad.⁴ Un experimento de un grupo de microorganismos llevado a cabo en el sistema iSeq 100, configurado en 2×151 pb, proporciona más de un 89 % de las bases en una puntuación Q30 o superior.

Revolucionario proceso químico de SBS de un canal

El sistema iSeq 100 utiliza la química demostrada de secuenciación por síntesis de Illumina en una celda de flujo de tramas con nanopocillos fabricados sobre un chip de CMOS para ofrecer un proceso químico de secuenciación de un solo canal. La generación de grupos y la secuenciación se producen en los nanopocillos, que están alineados directamente sobre cada fotodiodo de CMOS (píxel). El proceso químico exclusivo ExAmp garantiza que en cada nanopocillo solo se forme un grupo. El uso de un sensor de CMOS incorporado en el consumible representa un método de detección simple y rápido.

El proceso químico de secuenciación por síntesis de un solo canal emplea un solo colorante, dos pasos químicos y dos imágenes por ciclo de secuenciación (figura 4). Los nucleótidos se identifican por medio del análisis de los diferentes trazados de emisión de cada base en las dos imágenes. La adenina posee una etiqueta extraíble y solo va etiquetada en la primera imagen. La citosina posee un grupo conector que puede fijar una etiqueta y que se etiqueta únicamente en la segunda imagen. La timina lleva una etiqueta fluorescente permanente y, por tanto, está etiquetada en ambas imágenes y la guanina está oscura permanentemente (sin etiqueta).

 Siga leyendo sobre el proceso químico de secuenciación por síntesis de un solo canal en la [nota técnica Illumina CMOS Chip and One-Channel SBS Chemistry](#).

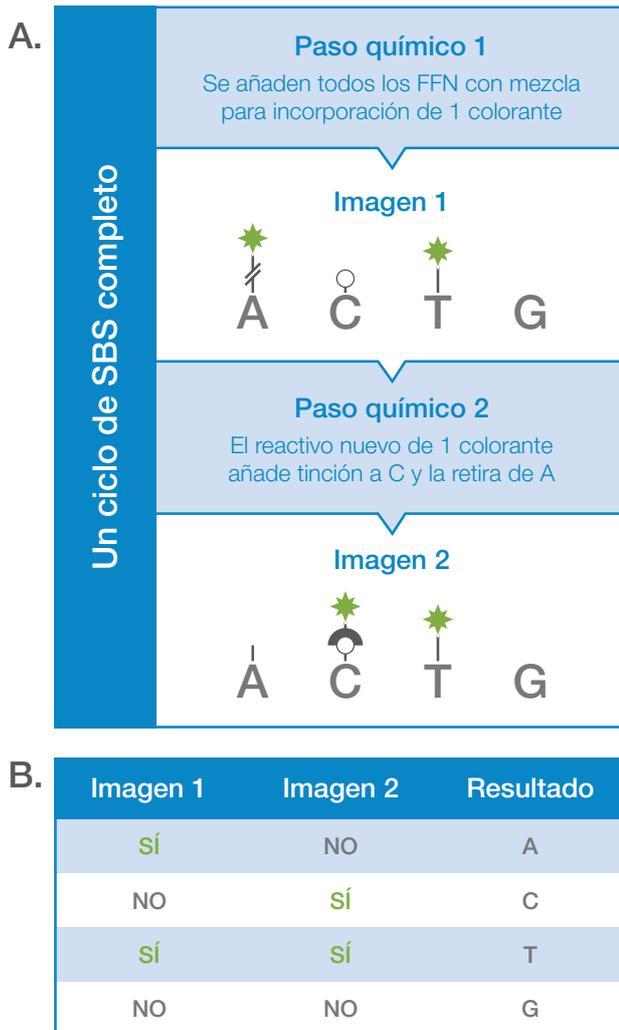


Figura 4: proceso químico de SBS de un canal. (A) El proceso químico de SBS de un canal consta de dos pasos del proceso químico y de dos pasos de adquisición de imágenes por ciclo de secuenciación, para lo que utiliza nucleótidos que pueden estar marcados o no, en función del paso del proceso químico. (B) La llamada de bases se determina mediante el patrón de señales encontrado en ambas imágenes.

Análisis de datos flexible y sencillo

El sistema iSeq 100 ofrece varias opciones de análisis de datos, entre las que cuentan el análisis en el propio sistema y el basado en la nube. Local Run Manager, un software de análisis plenamente integrado en el instrumento, se caracteriza por una estructura modular que le permite adaptarse a los ensayos actuales y futuros. Con Local Run Manager es posible planificar experimentos de secuenciación, hacer el seguimiento de bibliotecas y experimentos con registros de auditoría y realizar la integración con módulos de análisis de datos incorporados. Al ejecutar Local Run Manager en el ordenador del instrumento, los usuarios pueden supervisar el progreso del experimento y ver los resultados del análisis desde equipos remotos conectados a la misma red. Tras finalizar un experimento de secuenciación, Local Run Manager inicia automáticamente el análisis de los datos usando uno de los módulos de análisis específicos de la aplicación. Los módulos pueden producir datos de alineación, identificar variantes de nucleótido único (SNV), variantes estructurales, realizar análisis de la expresión, análisis de ARN pequeño, etc. (tabla 2).

Por otra parte, los datos de secuencias se pueden transferir, analizar y almacenar inmediatamente en BaseSpace™ Sequence Hub, el entorno informático de genómica de Illumina. Debido a los formatos de datos estándar del sector, los desarrolladores externos han creado un amplio ecosistema de aplicaciones de código abierto comerciales en BaseSpace Sequence Hub que permiten la realización de análisis sucesivos de datos. Estas aplicaciones proporcionan algoritmos automatizados para genomas completos, exomas, transcriptomas y datos de resecuenciación selectiva para su alineación, detección de variantes, anotación, visualización, etc.

Versátil y compatible con una amplia gama de aplicaciones

Con un rendimiento máximo de 2,0 Gb, el sistema iSeq 100 ofrece secuenciación multiplexada rápida para varias aplicaciones:

- Secuenciación del genoma completo de tamaño pequeño
- Resecuenciación selectiva
 - Resecuenciación selectiva con AmpliSeq for Illumina
 - PCR de rango largo
- Secuenciación de novo
- Validación de corrección genética
- Metagenómica (secuenciación del ARNr 16S)
- Secuenciación selectiva de mRNA
- Secuenciación de ARN pequeño
- Evaluación de múltiples genomas
- Clasificación basada en secuencias del antígeno leucocitario humano (HLA)

Tabla 2: Ejemplos de aplicaciones y configuraciones de los experimentos del sistema iSeq 100

Aplicación	Muestras/experimento	Duración del experimento
Secuenciación de genoma pequeño Genomas de 5-10 Mb, cobertura de 30x 2 × 150 pb	1-8	Aprox. 19 horas
Creación selectiva de perfiles de expresiones genéticas Hasta 500 objetivos 1 × 50 pb	1-48	Aprox. 9 horas
Secuenciación selectiva de amplicones Hasta 3000 amplicones 2 × 250 pb	1-48	Aprox. 19 horas

Resumen

A pesar de que el sistema iSeq 100 es el instrumento más pequeño de la gama de soluciones de Illumina, presenta grandes ventajas. En comparación con otros sistemas de secuenciación más grandes o con la contratación externa, el sistema iSeq 100 permite la realización más rápida y rentable de experimentos de menor escala, la autonomía de no tener que recurrir a la contratación externa y el control del proceso de secuenciación de principio a fin. Asimismo, al formar parte de una solución completa que abarca una serie de kits de preparación de bibliotecas y los pasos de secuenciación y de análisis de datos sencillo, el sistema iSeq 100 ofrece un flujo de trabajo asistido e integral. Con un precio asequible y un tamaño pequeño, el sistema iSeq 100 acerca las posibilidades de la NGS a prácticamente cualquier laboratorio y presupuesto.

Información adicional

Para obtener más información sobre el sistema iSeq 100, visite www.illumina.com/iseq.

Siga leyendo sobre más aplicaciones para el sistema iSeq 100 en www.illumina.com/systems/sequencing-platforms/iseq/learn.

Para consultar las Preguntas frecuentes, visite la [página de preguntas frecuentes sobre el sistema iSeq 100](#).

Datos para realizar pedidos

Sistema	N.º de catálogo
Sistema de secuenciación iSeq 100	20021535
Kits de reactivos de secuenciación	N.º de catálogo
Reactivo i1 de iSeq 100 v2 (300 ciclos)	20031371
Paquete de cuatro reactivos i1 de iSeq 100 v2 (300 ciclos)	20031374
Paquete de ocho reactivos i1 de iSeq 100 v2 (300 ciclos)	20040760

Referencias

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 datos en archivo. Illumina, Inc., 2017.
4. Illumina (2011) *Quality Scores for Next-Generation Sequencing*. Consultado el 1 de diciembre 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.

Especificaciones del sistema iSeq 100

Parámetro	Especificación
Configuración del instrumento	Seguimiento de RFID para consumibles
Ordenador de control del instrumento (interno) ^a	Unidad base: Celeron J1900, 2 GHz, CPU de cuatro núcleos Memoria: 8 GB de RAM Disco duro: 240 GB, estado sólido (SSD) Sistema operativo: Windows 10 IoT Enterprise
Entorno operativo	Temperatura: entre 15 °C y 30 °C (22,5 °C ±7,5 °C) Humedad: humedad relativa sin condensación del 20 al 80 % Altitud: menos de 2000 m Calidad del aire: clasificación II del grado de contaminación Ventilación: hasta 2048 BTU/h a 600 W Para uso exclusivo en interiores
Diodo luminiscente (LED)	520 nm, 1,5 W/cm ² en el plano de imagen
Dimensiones	Anchura × profundidad × altura (monitor levantado): 30,5 cm × 33 cm × 42,5 cm Peso: 16 kg Peso con el envase: 21 kg
Requisitos de alimentación	90-264 V CA, 47-63 Hz 80 W
Identificador de radiofrecuencia (RFID)	Frecuencia: 13,56 MHz Alimentación: corriente de alimentación de 120 mA, potencia de salida de RF de 200 mW
Especificaciones de WLAN	Frecuencia: 2,4 GHz y 5 GHz estándar: IEEE 802.11a IEEE 802.11b IEEE 802.11g IEEE 802.11n IEEE 802.11ac Alimentación: 3,3 VDC, corriente de suministro 780 mA
Seguridad y cumplimiento del producto	NRTL con certificación IEC Marcado CE 61010-1 Aprobado por FCC/IC

a. Las especificaciones del ordenador están sujetas a cambio.

Plataformas de NGS innovadoras

Illumina ofrece una gama completa de potentes sistemas de secuenciación NGS, mediante los cuales brinda un elevado nivel de calidad y precisión adaptadas para satisfacer las necesidades de diversas aplicaciones. Busque tablas de comparación para herramientas y sistemas de sobremesa y sistemas a escala de producción para ayudarte a elegir la plataforma adecuada según sus necesidades en

www.illumina.com/systems.