

Système iSeq^{MC} 100

Le plus petit et le plus abordable des systèmes de séquençage d'Illumina permet un séquençage efficace et rapide pour pratiquement tous les laboratoires.

Points saillants

- **Rapidité de la génération des données**
Exécutez les petits projets sur un instrument dédié dont le temps de traitement est court
- **Librairies de qualité et validation de principe commodes**
Évaluez la qualité des librairies avant de procéder aux analyses de grande envergure, faites des études pilotes ou générez des données en vue d'une demande de subvention
- **Opérations autonomes pour plus de commodité**
Contrôlez le processus de séquençage du début à la fin et maintenez votre propre calendrier en évitant la sous-traitance
- **Données d'une grande précision**
Tirez parti d'une grande sensibilité analytique pour détecter des variants et des transcrits rares, comparativement à la méthode qPCR ou au séquençage Sanger



Introduction

Le séquençage nouvelle génération (NGS) est plus facile et économique avec le système compact Illumina iSeq 100 (Figure 1). Le système iSeq 100 allie la technologie des semi-conducteurs complémentaires à l'oxyde de métal (CMOS) à la précision éprouvée de la chimie de séquençage par synthèse (SBS) d'Illumina pour produire rapidement des données d'une grande précision. Le système iSeq 100 génère jusqu'à 1,2 Go de données par analyse en 19 heures et procure la haute résolution et la grande sensibilité analytique requises pour la détection de variants et de transcrits rares.^{1,2}

Le système iSeq 100 prend peu de place et offre de grands avantages. Il permet de réaliser des analyses de petite envergure rapidement et à peu de frais sans avoir recours à des systèmes plus imposants. Grâce au système iSeq 100, les chercheurs peuvent réaliser les analyses à leur propre rythme, sans devoir attendre l'atteinte d'un lot de taille optimale pour l'utilisation d'un système à débit élevé et sans avoir recours à des sous-traitants. De plus, ils gardent le contrôle du processus de séquençage du début à la fin, ce qui leur donne une plus grande confiance en ce qui

Figure 1: Le système iSeq 100 : le système iSeq 100 tire parti de la puissance du SNG dans le système de séquençage de table le plus abordable et compact de la gamme de produits d'Illumina.

à trait à l'intégrité des échantillons et aux résultats de l'analyse des données. À un prix abordable pour la plupart des laboratoires, le système iSeq 100 constitue une solution économique pour les projets indépendants de séquençage nouvelle génération à petite échelle.

Flux de travail rationalisé, en trois étapes

Le système iSeq 100 s'intègre dans un flux de travail rationalisé en trois étapes qui comprend la préparation des librairies, le séquençage et l'analyse des données (Figure 2).

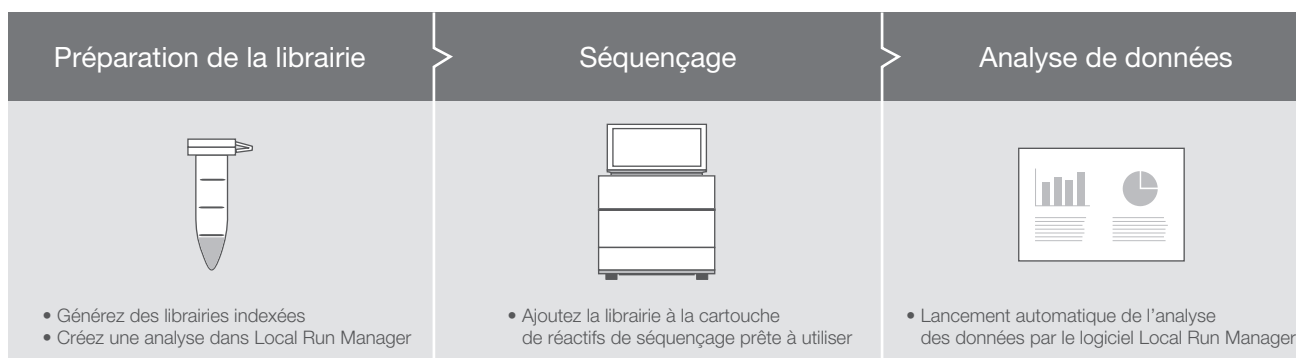


Figure 2 : Le flux de travail du système iSeq 100 : le système iSeq 100 s'intègre dans un flux de travail rationalisé, de l'ADN aux données.

Tableau 1: Paramètres de rendement du système iSeq 100^a

Configuration de l'analyse	Lectures passant le filtre (PF) par analyse	Débit	Scores de qualité ^b	Durée de l'analyse ^c
1 × 36 pb	4 M	144 Mo	> 85 %	Env. 9 heures
1 × 50 pb	4 M	200 Mo	> 85 %	Env. 9 heures
1 × 75 pb	4 M	300 Mo	> 80 %	Env. 10 heures
2 × 75 pb	4 M	600 Mo	> 80 %	Env. 13 heures
2 × 150 pb	4 M	1,2 Go	> 80 %	Env. 19 heures

a. Les paramètres de performance peuvent varier en fonction du type d'échantillon, de la qualité de l'échantillon et du nombre d'amplifiats passant le filtre.

b. Le pourcentage de bases > Q30 est une moyenne calculée sur l'intégralité de l'analyse.

c. La durée de l'analyse englobe la génération des amplifiats, le séquençage, la définition des bases et l'attribution des scores de qualité.

Préparation rapide des bibliothèques

Le système iSeq 100 est compatible avec toute la gamme des trousseaux de préparation de bibliothèques d'Illumina. Avec les trousseaux de préparation de bibliothèques d'ADN Nextera^{MC} XT et Illumina DNA Prep, les chercheurs peuvent préparer des bibliothèques multiplexées en trois à quatre heures pour le séquençage de petits génomes ou le séquençage direct de longs amplicons. De plus, la solution de séquençage ciblé AmpliSeq^{MC} pour Illumina offre du contenu conçu par des spécialistes. AmpliSeq pour les panels ciblés d'Illumina sont offerts sous forme de panels fixes prêts à l'utilisation, de panels conçus par la communauté scientifique ou de panels personnalisés répondant à des besoins précis pour la recherche. Selon la version choisie, les trousseaux de préparation de bibliothèques d'Illumina peuvent ne nécessiter que 1 ng d'ADN ou d'ARN (ADNc) d'entrée et prendre en charge l'ADN extrait d'échantillons fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FFPE), tels que des tissus tumoraux préservés.

Séquençage sur le système iSeq 100

Après leur préparation, les bibliothèques sont chargées dans une cartouche de réactifs décongelée et préremplie conçue pour le système iSeq 100. Pour lancer une analyse, il suffit de décongeler et de charger la cartouche préremplie, ce qui ne prend que cinq minutes (durée de manipulation totale). Le système iSeq 100 réalise les étapes de la dénaturation des bibliothèques, l'amplification clonale, le séquençage et l'analyse des données dans un même instrument, ce qui évite d'avoir à se procurer de l'équipement auxiliaire. L'interface utilisateur intuitive guide les chercheurs à toutes les étapes de la configuration et du lancement de l'analyse, ce qui leur permet de réaliser des analyses de séquençage aux fins de diverses applications moyennant un minimum de formation, avec un délai de configuration minimal.

Sensibilité analytique et précision exceptionnelles grâce à la technologie SBS

Le système iSeq 100 utilise la technologie SBS éprouvée d'Illumina, qui est employée pour générer > 90 % des données de séquençage dans le monde,³ afin d'offrir des données de qualité supérieure avec > 80 % des bases Q30 ou plus (Tableau 1, Figure 3). Cette méthode fondée sur un terminateur réversible permet le séquençage parallèle de millions de fragments d'ADN, détectant des bases uniques à mesure que celles-ci sont incorporées dans des brins d'ADN en formation. La chimie SBS d'Illumina exploite la compétition naturelle entre les quatre nucléotides marqués, ce qui réduit le biais lié à l'incorporation et permet un séquençage plus précis des régions répétitives et des homopolymères.⁵ Comparativement au séquençage Sanger basé sur l'électrophorèse capillaire, le SNG peut détecter un plus large éventail de variants d'ADN, notamment les variants à faible fréquence et les variants mis en phase adjacents, tout en réduisant le temps d'obtention des résultats et le nombre d'étapes de manipulation.^{1,2}

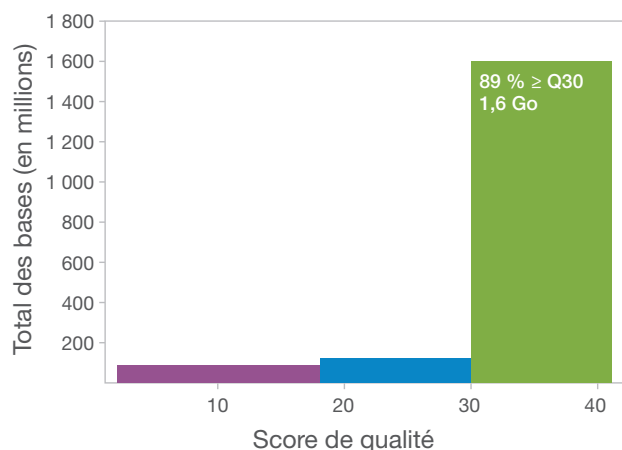


Figure 3 : Scores de qualité du système iSeq 100 : le score de qualité est une prédiction de la probabilité d'une erreur dans la définition des bases. Le score de qualité de 30 (Q30) est généralement considéré comme le point de référence pour les données de haute qualité.⁴ Pour un regroupement d'échantillons microbiens analysé sur le système iSeq 100 à 2 × 151 pb, plus de 89 % des bases ont un score de qualité égal ou supérieur à Q30.

Chimie SBS à un canal hautement novatrice

Le système iSeq 100 utilise la chimie SBS éprouvée d'Illumina sur une Flow Cell structurée comportant des nanopuits fabriqués sur une puce CMOS pour fournir une chimie de séquençage à un canal. La génération d'amplifiats et le séquençage se font dans les nanopuits, qui sont alignés directement au-dessus des photodiodes CMOS (pixels). La chimie brevetée ExAmp fait en sorte qu'un seul amplifiat se forme dans chaque nanopuit. L'utilisation d'un capteur CMOS enchâssé dans le consommable est une méthode de détection simple et rapide.

La chimie SBS à un canal utilise un marqueur, deux étapes chimiques et deux images par cycle de séquençage (Figure 4). Les nucléotides sont identifiés par l'analyse des différents motifs d'émissions pour chaque base, dans les deux images. Le marqueur de l'adénine peut être retiré et l'adénine n'est marquée qu'à la première image. Le groupe de liaison de la cytosine peut lier un marqueur et n'est marqué qu'à la deuxième image. La thymine a un marqueur fluorescent permanent et est donc marquée dans les deux images, et la guanine n'est jamais marquée.

 Vous pouvez lire davantage sur la chimie SBS à un canal dans la note technique [sur la puce CMOS et la chimie SBS à un canal d'Illumina \(Illumina CMOS Chip and One-Channel SBS Chemistry\)](#).

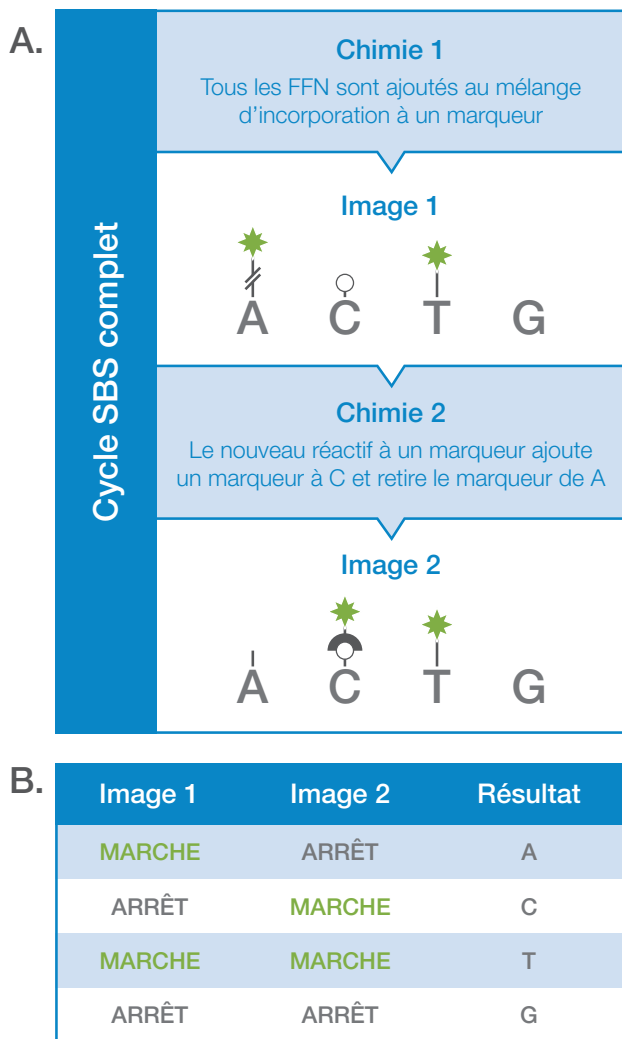


Figure 4 : La chimie SBS à un canal : (A) la chimie SBS à un canal comprend deux étapes de chimie et deux étapes d'imagerie par cycle de séquençage et a recours à des nucléotides pouvant être marqués ou non selon l'étape de la chimie. (B) La définition des bases est déterminée par le motif du signal dans les deux images.

Analyse simple et flexible des données

Le système iSeq 100 offre différentes options d'analyse des données, y compris les solutions sur instrument et infonuagiques. Local Run Manager, logiciel d'analyse de bord pleinement intégré, comporte une architecture modulaire adaptable aux tests actuels et futurs. Local Run Manager prend en charge la planification des analyses de séquençage, le suivi des bibliothèques et des analyses à l'aide des pistes de vérification et l'intégration des modules d'analyse de données sur instrument. Pendant que Local Run Manager s'exécute sur l'ordinateur de l'instrument, les utilisateurs peuvent suivre les progrès de l'analyse et visualiser les résultats à partir d'ordinateurs distants connectés au même réseau. Une fois l'analyse de séquençage terminée, Local Run Manager lance automatiquement l'analyse des données à l'aide de l'un des modules d'analyse propres à l'application. Les modules peuvent générer des données d'alignement et identifier des variants à simple nucléotide (SNV) et des variants structurels, analyser l'expression génique, analyser les petits ARN, et plus encore (Tableau 2).

Les données de séquençage peuvent aussi être instantanément transférées, analysées et entreposées de manière sécuritaire dans BaseSpace Sequence Hub^{MC}, l'environnement informatisé de

génomique d'Illumina. Grâce aux formats de données d'application sectorielle, des développeurs tiers ont créé un environnement varié d'applications payantes et gratuites dans BaseSpace Sequence Hub pour une analyse des données en aval. Ces applications comportent des algorithmes automatisés pour l'analyse du génome entier, des exomes et des transcriptomes, ainsi que des données sur le reséquençage ciblé pour l'alignement, la détection des variants, l'annotation, la visualisation, etc.

Un système polyvalent pour la prise en charge d'une large gamme d'applications

Offrant un rendement maximal de 2,0 Go, le système iSeq 100 permet de réaliser rapidement un séquençage multiplexé, pour diverses applications :

- Séquençage d'un petit génome entier
- Reséquençage ciblé
 - Reséquençage ciblé avec AmpliSeq pour Illumina
 - PCR longs fragments
- Séquençage de novo
- Validation de l'édition génique
- Métagénomique (séquençage 16S ARNr)
- Séquençage d'ARNm ciblé
- Séquençage de petits ARN
- Évaluation de multiples génomes
- Typage des antigènes leucocytaires humains (HLA) basé sur les séquences

Tableau 2: Exemples d'applications du système iSeq 100 et des configurations d'analyses

Application	Échantillons par analyse	Durée de l'analyse
Séquençage de petits génomes		
Génomes de 5 à 10 Mo, couverture de 30x 2 x 150 pb	1 à 8	Env. 19 heures
Profilage ciblé de l'expression génique		
Jusqu'à 500 cibles 1 x 50 pb	1 à 48	Env. 9 heures
Séquençage d'amplicons ciblés		
Jusqu'à 3 000 amplicons 2 x 250 pb	1 à 48	Env. 19 heures

Résumé

Le système iSeq 100 est le plus petit instrument de la gamme Illumina, mais il comporte de grands avantages. Comparativement aux systèmes de séquençage de plus grande envergure ou à l'utilisation des services de sous-traitants, le système iSeq 100 permet de réaliser de petites analyses plus rapidement et de façon plus abordable, procure de l'autonomie et permet de contrôler le processus de séquençage du début à la fin. De plus, comme il fait partie d'une solution complète englobant toute la gamme de trousse de préparation de bibliothèques, le séquençage et l'analyse conviviale des données, le système iSeq 100 offre un flux de travail entièrement pris en charge et intégré. Compact et peu coûteux, le système iSeq 100 permet à pratiquement tous les laboratoires de mettre à profit la puissance du SNG, quel que soit leur budget.

En savoir plus

Pour en savoir plus sur le système iSeq 100, rendez-vous sur : www.illumina.com/iseq

Vous pouvez lire davantage à propos d'applications supplémentaires pour le système iSeq 100 au www.illumina.com/systems/sequencing-platforms/iseq/learn

Pour voir la Foire aux questions, consultez la [FAQ du système iSeq 100](#)

Renseignements relatifs à la commande

Système	N° de référence
Système de séquençage iSeq 100	20021535
Trousses de réactifs de séquençage	N° de référence
Réactif iSeq 100i1 v2 (300 cycles)	20031371
Réactif iSeq 100i1 v2 (300 cycles) en paquet de 4	20031374
Réactif iSeq 100i1 v2 (300 cycles) en paquet de 8	20040760

Références

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.
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.
3. Calcul des données internes. Illumina, Inc. 2017.
4. Illumina (2011) *Quality Scores for Next-Generation Sequencing.* Consulté le 1er décembre 2017.
5. 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.

Spécifications du système iSeq 100

Paramètre	Spécification
Configuration de l'instrument	Suivi RFID pour consommables
Ordinateur de commande de l'instrument (interne) ^a	Unité de base : processeur Celeron J1900, 2 GHz, quatre cœurs Mémoire vive : 8 Go de RAM Disque dur : 240 Go, SSD Système d'exploitation : Windows 10 IoT Entreprise
Environnement de fonctionnement	Température : de 15 °C à 30 °C (22,5 °C ± 7,5 °C) Humidité : humidité relative de 20 à 80 % sans condensation Altitude : moins de 2 000 m (6 500 pi) Qualité de l'air : classement pollution de degré II Aération : maximum de 2 048 BTU/h à 600 W Réservé à un usage intérieur
Diode électroluminescente (DEL)	520 nm, 1,5 W/cm ² au plan image
Dimensions	L x P x H (écran levé) : 30,5 cm x 33 cm x 42,5 cm (12,0 po x 13,0 po x 16,7 po) Poids : 16 kg (35 lb) Poids emballé : 21 kg (47 lb)
Exigences d'alimentation	de 90 à 264 V CA, à 47 à 63 Hz 80 W
Identification par radiofréquence (RFID)	Fréquence : 13,56 MHz Alimentation : courant d'alimentation de 120 mA, puissance de sortie RF de 200 mW
Spécifications WLAN	Fréquence : 2,4 GHz et 5 GHz standard : IEEE 802.11a IEEE 802.11b IEEE 802.11g IEEE 802.11n IEEE 802.11ac Alimentation : 3,3 VCC, courant d'alimentation 780 mA
Sécurité et conformité du produit	Certifié NRTL CEI Certifié CE 61010-1 Conforme FCC/IC

a. Les spécifications informatiques sont susceptibles de changer.

Plateformes SNG novatrices

Illumina offre une gamme complète de systèmes de séquençage SNG offrant des données de grande qualité et une précision conçue pour répondre aux besoins de diverses applications. Vous trouverez des tableaux de comparaison pour les systèmes et outils utilisés à diverses échelles, de la paillasse à la production, pour vous aider à choisir la bonne plateforme en fonction de vos besoins au

www.ill.com/systemsumina