

iSeq™ 100 シーケンサーシステム

イルミナ史上最小、最も手頃な価格のシーケンスシステムにより、あらゆる研究室で迅速かつ効率的な次世代シーケンスを実現。

特長

● 迅速なデータ生成

データ量を抑えた次世代シーケンス装置により短い所要時間で小規模プロジェクトを実行

● ライブラリー品質評価と概念実証 (Proof-of-Principle) 試験に最適

大規模プロジェクト前のライブラリー品質評価、パイロット研究の実施、またはグラント申請用データの生成

● 自分のスケジュールで自由に解析を実施

これまで外注していたシーケンス過程を初めから終わりまでコントロールすることで、自分のスケジュールで自由に解析を実施

● 高い解析感度と非常に優れたデータ精度

qPCR や Sanger シーケンスと比べ、低頻度のバリエーションおよび転写産物の検出を高感度で実施^{1,2}



図 1 : iSeq 100 システム iSeq 100 システムは、たった 1 立方フィート (0.03 立方メートル) のサイズで NGS のパワーを発揮する、イルミナポートフォリオで最もコンパクトなベンチトップシーケンスシステムです。

はじめに

次世代シーケンス (NGS) の最新イノベーションが登場しました。コンパクトな iSeq 100 システム (図 1) 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、短い所要時間で高精度なデータをもたらします。iSeq 100 システムは、ラン当たり 1.2 Gb のデータを 17.5 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解析感度を実現しています。^{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

高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、自分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。全ての研究室に手の届く範囲の価格の iSeq 100 システムは、独立した小規模な次世代シーケンス用のコスト効率の良いソリューションを実現しています。

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、データ解析から成る 3 ステップワークフローの一部です (図 2)。



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

表 1: iSeq 100 システムのスペック^a

リード長	リード数 (パスフィルター) / ラン	データ出力	クオリティスコア ^b	ラン時間 ^c
1 × 36 bp	400 万	144 Mb	> 85%	9 時間
1 × 50 bp	400 万	200 Mb	> 85%	9 時間
1 × 75 bp	400 万	300 Mb	> 80%	10 時間
2 × 75 bp	800 万	600 Mb	> 80%	13 時間
2 × 150 bp	800 万	1.2 Gb	> 80%	17.5 時間

a. 実際の性能パラメーターは、サンプルの種類、クオリティ、そしてパスフィルタークラスターに依存します。

b. Q30 以上の塩基の割合。

c. 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の測定を含みます。



図 3: NGS シーケンスシステムポートフォリオ イルミナ NGS システムは、幅広いアプリケーション、サンプルの種類、必要なスループットに対応するソリューションを提供しています。各システムは、柔軟性のあるスループットとシンプルで効率的なワークフローおよび高精度なデータをもたらします。

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全てに対応しています。Nextera™ XT および Nextera DNA Flex ライブラリー調製キットを用いると、小さなゲノムや長いアンプリコンのダイレクトシーケンス用のマルチプレックスライブラリーを 3 ~ 4 時間で調製できます。また、新しい 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りデザインされたコンテンツを提供しています。AmpliSeq ターゲットパネルは、すぐに使える設計済みパネル、コミュニティデザイン済みパネルがあり、個別の研究のニーズに合うようにカスタマイズすることもできます。イルミナライブラリー調製キットには、最少 1 ng の DNA または RNA (cDNA) インプット量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。

iSeq 100 システムは全イルミナライブラリー調製キットに対応しており、これにより他の全てのイルミナ装置とも互換性があります。この互換性によって、システム間のデータ比較や、MiniSeq™、MiSeq™、NextSeq™ システムなど大きなシステムへのスケールアップが簡単に行えます (図 3)。

iSeq 100 システムでのシーケンス

調製後、ライブラリーは予め試薬が充填された iSeq 100 システム用カートリッジにロードされます。試薬が既に充填されているカートリッジを用いるため iSeq 100 システムでのランは試薬の融解、ロード、ランスタートという簡単な操作で、(合計ハンズオン時間)5 分で開始できます。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一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ースで、ラン設定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。

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。

SBS ケミストリーによる高い解析感度と精度

iSeq 100 システムは、シーケンスランに世界中で最も広く採用されている NGS ケミストリーである実証済みのイルミナ SBS ケミストリーを採用しています。³ iSeq 100 システムはシーケンスされた塩基の 75% 以上が Q30 以上の高品質データを産出します (表 1、図 4)。

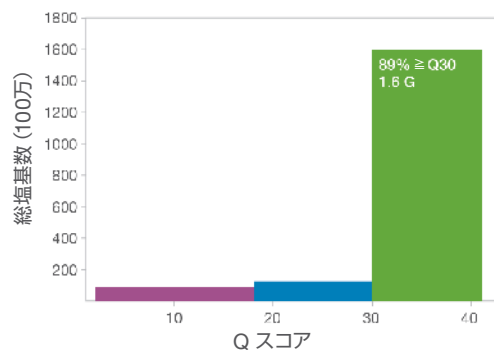


図 4: iSeq 100 システムクオリティスコア クオリティスコア (Q スコア) は、ベースコーリングにおけるエラー確率の予測指標です。Q スコア 30 (Q30) は、高品質なデータの基準として広く認識されています。⁴ iSeq 100 システムで 2 × 151 bp に設定した微生物サンプルプールランでは、シーケンスされた塩基の 89% 以上が Q30 以上を示しました。

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 つ全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。⁵ 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。^{1,2}

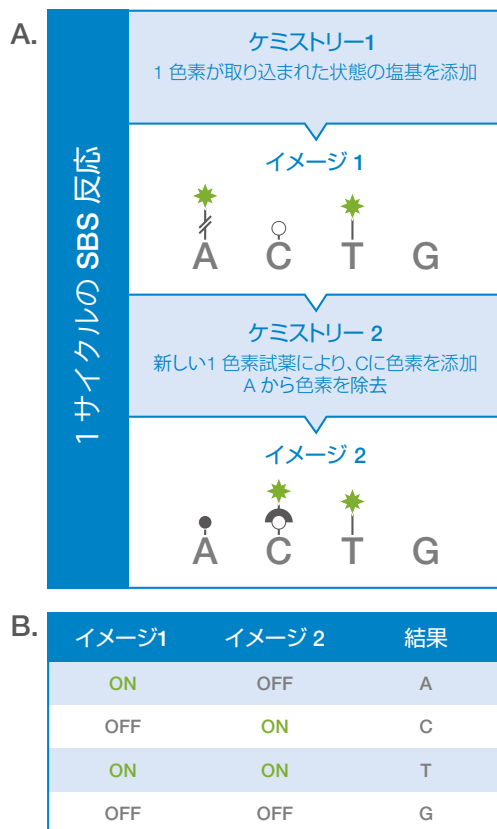


図 5: 1 色法 SBS ケミストリー (A) 1 色法 SBS ケミストリーでは、シーケンス 1 サイクル当たり、2 回のケミストリーステップと 2 回のイメージングステップを実施します。いずれかのケミストリーステップで標識されるまたは標識されないヌクレオチドを用います。(B) ベースコールは両方のイメージのシグナルパターンを用いて決定します。

革新的な 1 色法 SBS ケミストリー

iSeq 100 システムは実証済みのイルミナ SBS と CMOS テクノロジーを組み合わせ、1 色法シーケンスケミストリーを実現したものです。この iSeq 100 システムは CMOS チップ上に作製されたナノウェルによるパターン化フローセルを使っています。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 つのクラスターだけを形成します。消耗品に組み込まれた CMOS センサーを使うことで、シングルかつ迅速な検出方法を実現しています。

4 色法 SBS ケミストリーを使うシーケンサーは、各ヌクレオチドに 4 色の異なる色素を使い、シーケンスサイクル当たり 1 回のケミストリーステップがあり 4 つのイメージを取得しますが、これとは異なり、iSeq 100 システムは 1 色の色素を使い、各シーケンスサイクルに 2 回のケミストリーステップと 2 つのイメージを取得します (図 5)。1 色ケミストリーでは、アデニンの標識は取り除くことができ、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でき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。チミジ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まです (非標識)。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が同定されます。

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。

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データ解析があります。Local Run Manager ソフトウェアは完全に統合された装置搭載型の解析ソフトウェアです。モジュール構造となっているため、現在だけでなく将来的なアクセシビリティをサポートすることが可能です。このソフトウェアはシーケンスランの設定、記録追跡機能によるライブラリーとランのトラッキングだけでなく搭載したデータ解析モジュールによるデータ解析までサポートします。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別の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、一塩基多型 (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、さらなる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。

幅広いアプリケーションをサポートする多目的性

1.2 Gb の最大出力によって、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 シーケンス)
- 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) のシーケンススペースのタイピング

表 2: iSeq 100 システム例とラン構成例

アプリケーション	サンプル数/ラン	ラン時間
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 2 × 150 bp	1 ~ 8	17.5 時間
ターゲット遺伝子発現プロファイリング ~ 500 ターゲット 1 × 50 bp	1 ~ 48	9 時間
ターゲットアンプリコンシーケンス ~ 3000 アンプリコン 2 × 150 bp	1 ~ 48	17.5 時間

製品情報

システム名	カタログ番号
iSeq 100 Sequencing System	20021532
試薬キット名	カタログ番号
iSeq 100 i1 Reagent (300-cycle kit)	20021533
iSeq 100 i1 Reagent 4 Pack (300-cycle kit)	20021534

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小の装置ですが、大きなアドバンテージを提供します。大型シーケンスシステムや外注と比べると、iSeq 100 システムは、迅速でコスト効率よい小規模のランを、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、完全にサポートされた、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。

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.
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. Data calculations on file. Illumina, Inc., 2015.
4. Illumina (2011) [Quality Scores for Next-Generation Sequencing](#). Accessed December 1, 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.

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

iSeq 100 システム仕様

パラメーター	仕様
装置の構成	試薬消耗品トラッキング用の RFID 機能搭載
装置コントロール コンピューター (内蔵) ^a	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: 20 ~ 80%、結露なきこと 高度: 2000 m (6500 ft) 以下 空気質: 汚染度評価 II 換気: 最大 2048 BTU/時 @600 W 室内で使用のこと
発光ダイオード (LED)	520 nm、イメージパネルで 1.5 W/cm ²
寸法	幅×奥行×高さ: 30.5 cm × 33 cm × 42.5 cm (12.0 インチ × 13.0 インチ × 16.7 インチ) 重量: 16 kg (35 lbs) 梱包重量: 21 kg (47 lbs)
所要電源	90 ~ 264 VAC、47 ~ 63 Hz 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
製品安全性および準拠	NRTL 認証 IEC 61010-1 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。

詳細はこちらから

iSeq 100 システムに関する詳細はこちらをご覧ください
jp.illumina.com/iseq

CMOS テクノロジーおよび 1 色法 SBS に関する詳細な情報は、[イルミナ CMOS Chip および 1 色法 SBS ケミストリー](#) の Technical Note をダウンロードしてください。

iSeq 100 システムでの微生物またはミトコンドリアシーケンスに関する詳細は、[iSeq 100 システムによる微生物 WGS](#) または、[iSeq 100 システムによるミトコンドリア DNA シーケンス](#) の Application Note をご覧ください。

よくある質問と回答を見るには、[iSeq 100 システムの FAQ ページ](#) をご覧ください。

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

© 2018 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。

Pub. No. 770-2017-020-B-JPN 13APR2018

