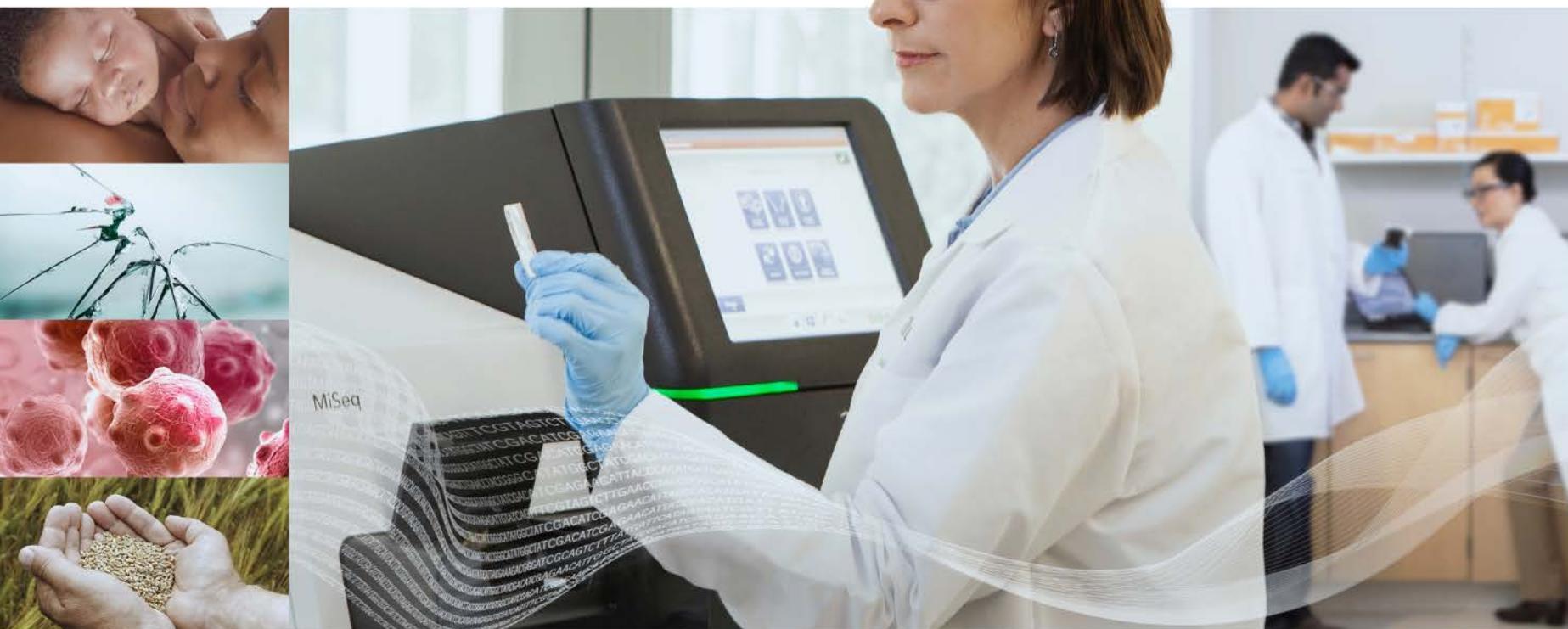


iSeq™ 100 シーケンスシステムのご紹介

あらゆるラボにフィットする迅速で効率的な低スループットシーケンスを
実現するイルミナの最新ソリューション

イルミナ株式会社技術営業部 小林孝史

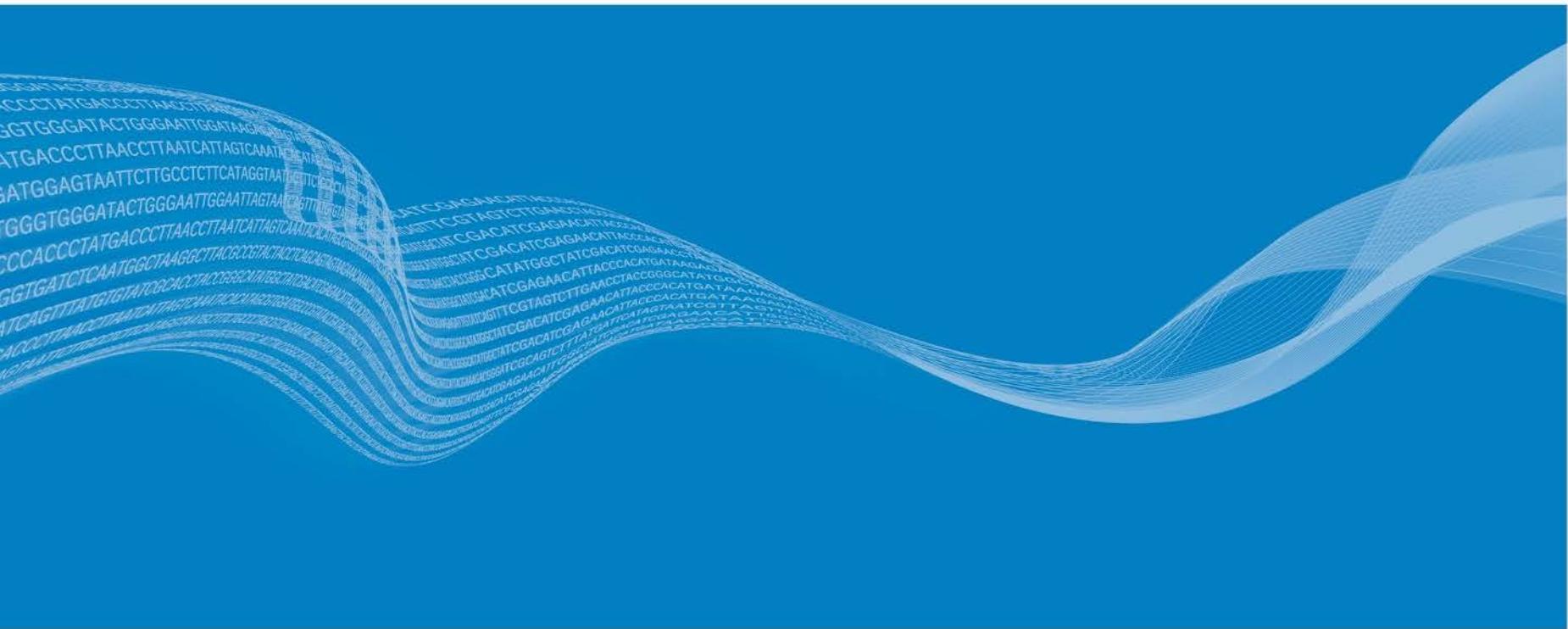
イルミナ株式会社セグメントマーケティング部 藤原鈴子



本日の内容

- ラボの課題において
iSeq 100システムが提供する解決法
- iSeq 100システムの特長
- アプリケーションの紹介
 - 小さいゲノムのシーケンス
 - ミトコンドリアシーケンス
 - AmpliSeq for Illuminaパネル
- まとめ

ラボの課題において iSeq 100システムが提供する解決法



ケース1) qPCRやサンガーシーケンスを使用-コスト

qPCRで遺伝子発現解析、サンガー法でターゲットリシーケンスを実施する場合



qPCR/サンガーシーケンスのコストを平均 \$5/反応/サンプルで
試算

ケース1) qPCRやサンガーシーケンスを使用- 操作

qPCRで遺伝子発現解析、サンガー法でターゲットリシーケンスを実施する場合

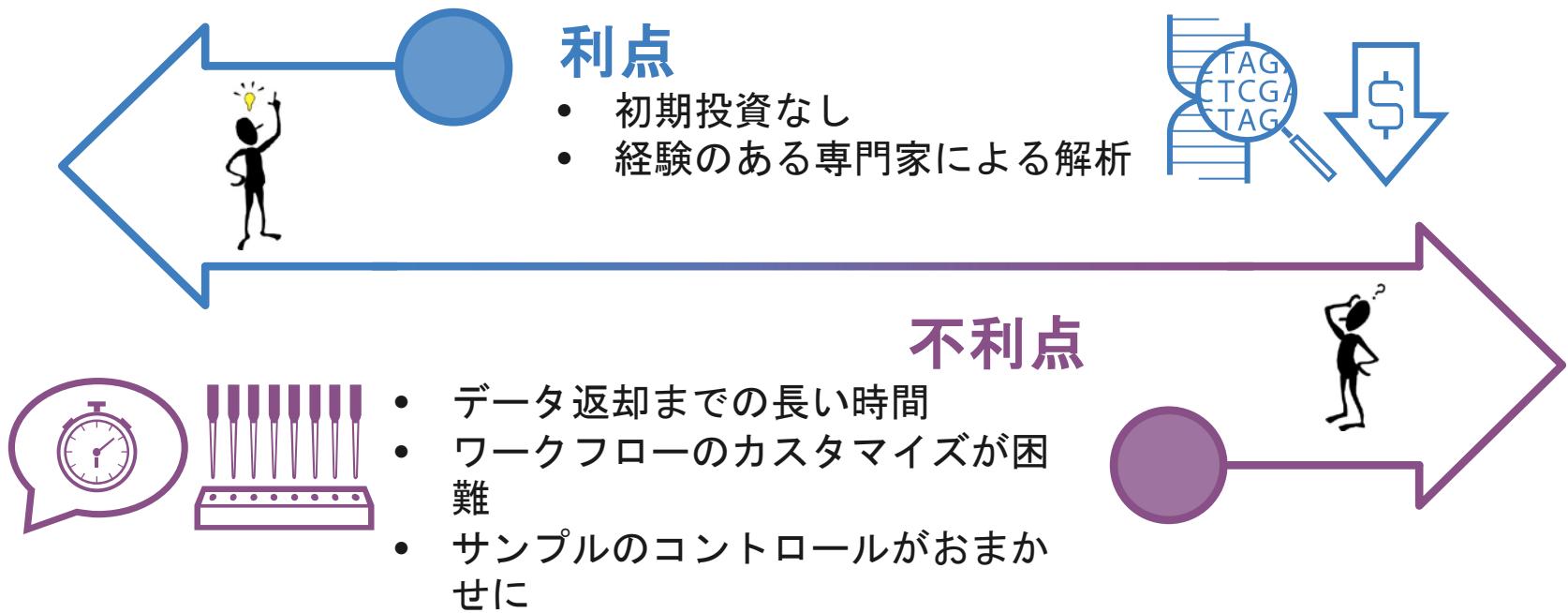
必要な 96-well プレートの枚数

qPCR	ターゲット数	サンガーシーケンス
	1 1	
	18 24	
	96 48	
	150 200	

qPCRではSingle PlexでRepliacate n=3、サンガーシーケンスではFwdとRvsの2回で試算

ケース2) 受託解析を使用- 実験のコントロール

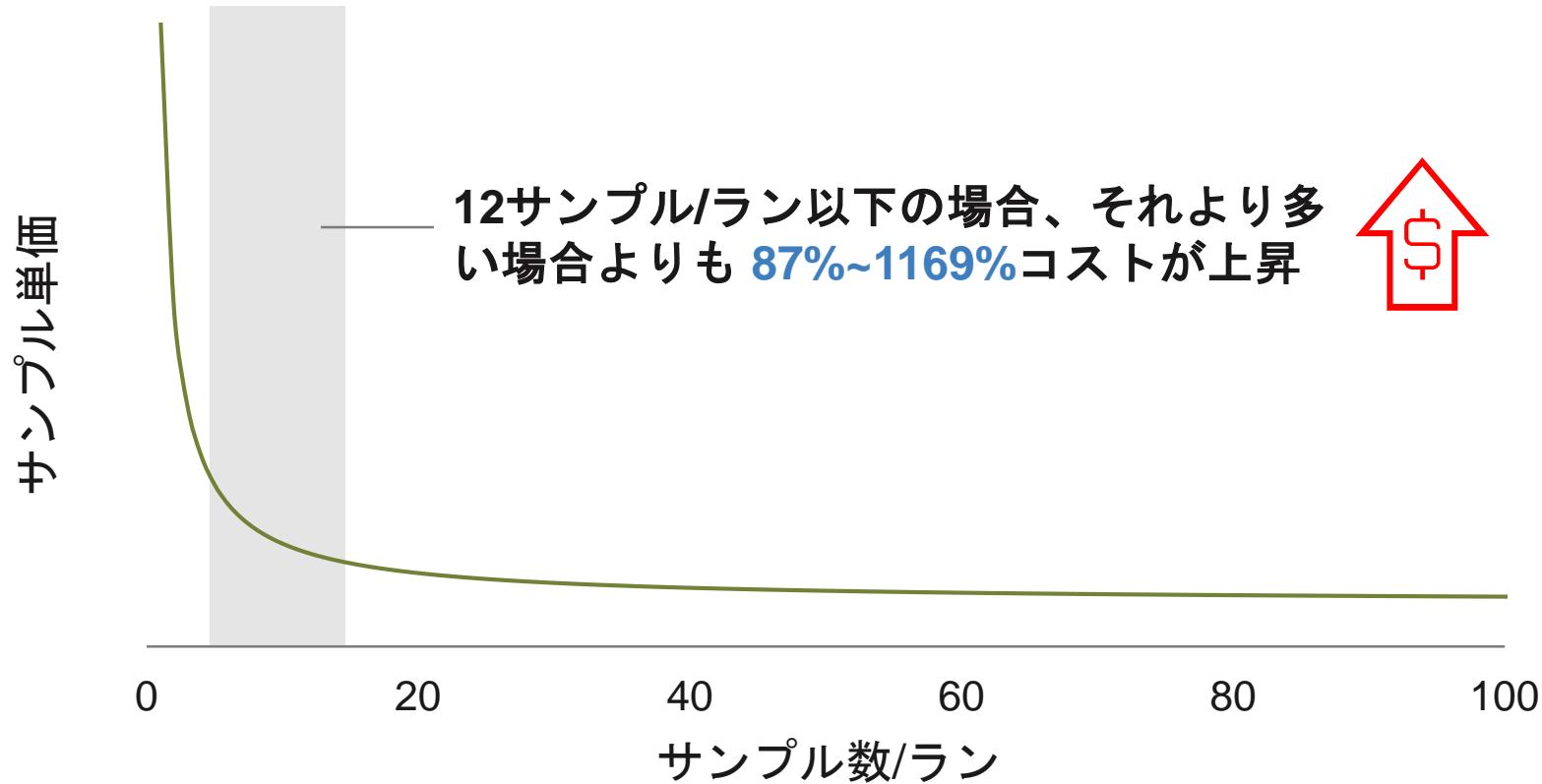
サンプルを受託解析企業、共同研究先、コアラボに送付して解析する場合



ケース3) 中/大型NGS所有- 少サンプルでの効率性

NextSeqでターゲットリシーケンスを少ないサンプルに対して実施する場合

サンプル単価とサンプル数/ランの関係



NextSeq Mid-output 300 cycle キットでBRCA1/2パネルを解析するコストをカタログ価格で
試算

ラボの課題を克服する解決策が必要...

qPCR・サンガーフローで解析



受託サービスを使用



中・大型NGSを所有



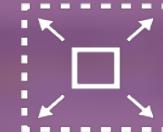
数百ターゲットを
同時に解析



低い初期投資と
毎日使用できる
消耗品価格



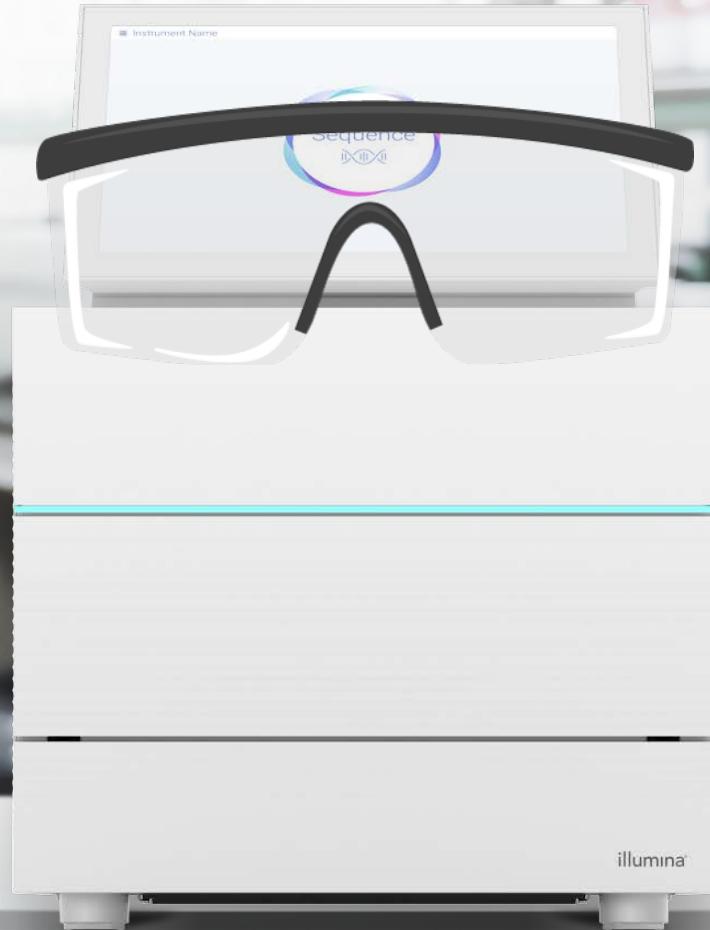
少サンプルでも
効率的に解析



小規模から中規模
実験まで幅広く
カバー

iSeq 100がこれらの課題を解決します

新しいラボパートナーの提案



For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

illumina®

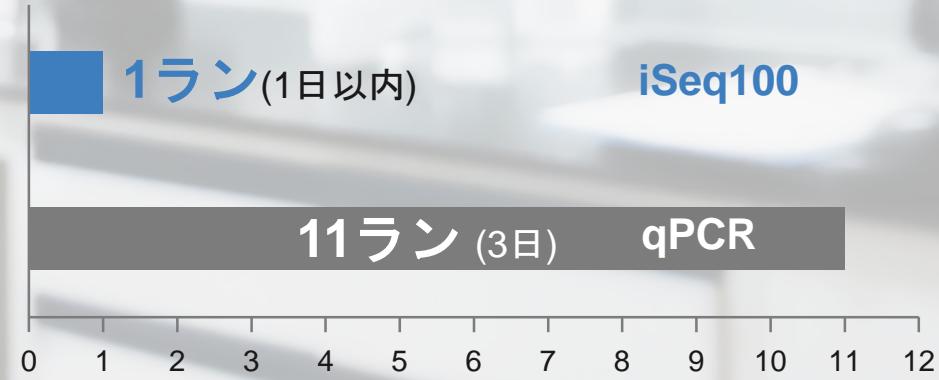
多ターゲットのリシーケンスも1ラン、1日で完了

qPCRで500ターゲット解析する場合にかかる時間との比較



iSeq 100システムは1回のランで解析可能
(50bp x 1, 9時間)

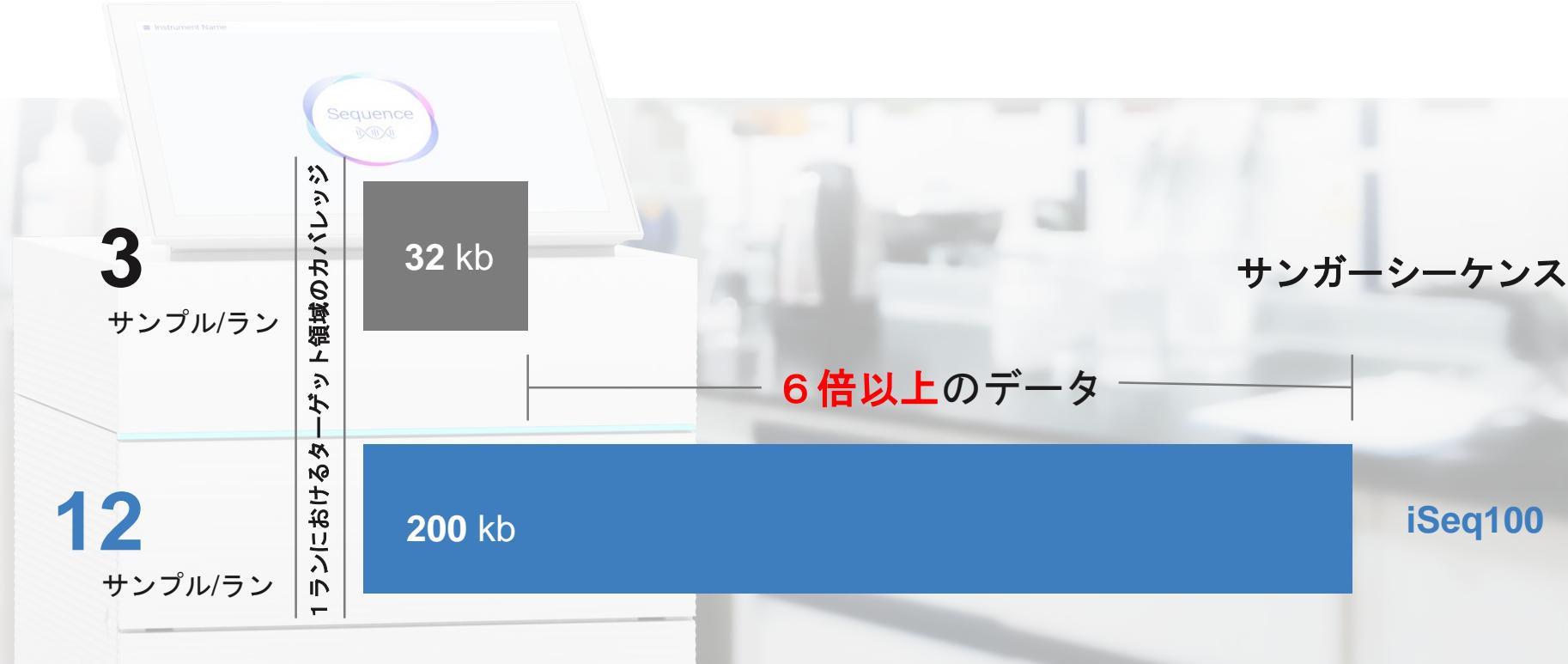
8サンプル、500のターゲット領域



* 384 wellプレートにてqPCRをレプリケート1回で試算

単位コスト当たりのデータ量が大きくコスト効率的

150ドルで得られるデータ量をサンガーシーケンスと比較



サンガー法ではターゲットを1 kbのアンプリコンとし、3サンプルバッチ/run、\$5/ランとして試算。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

illumina®

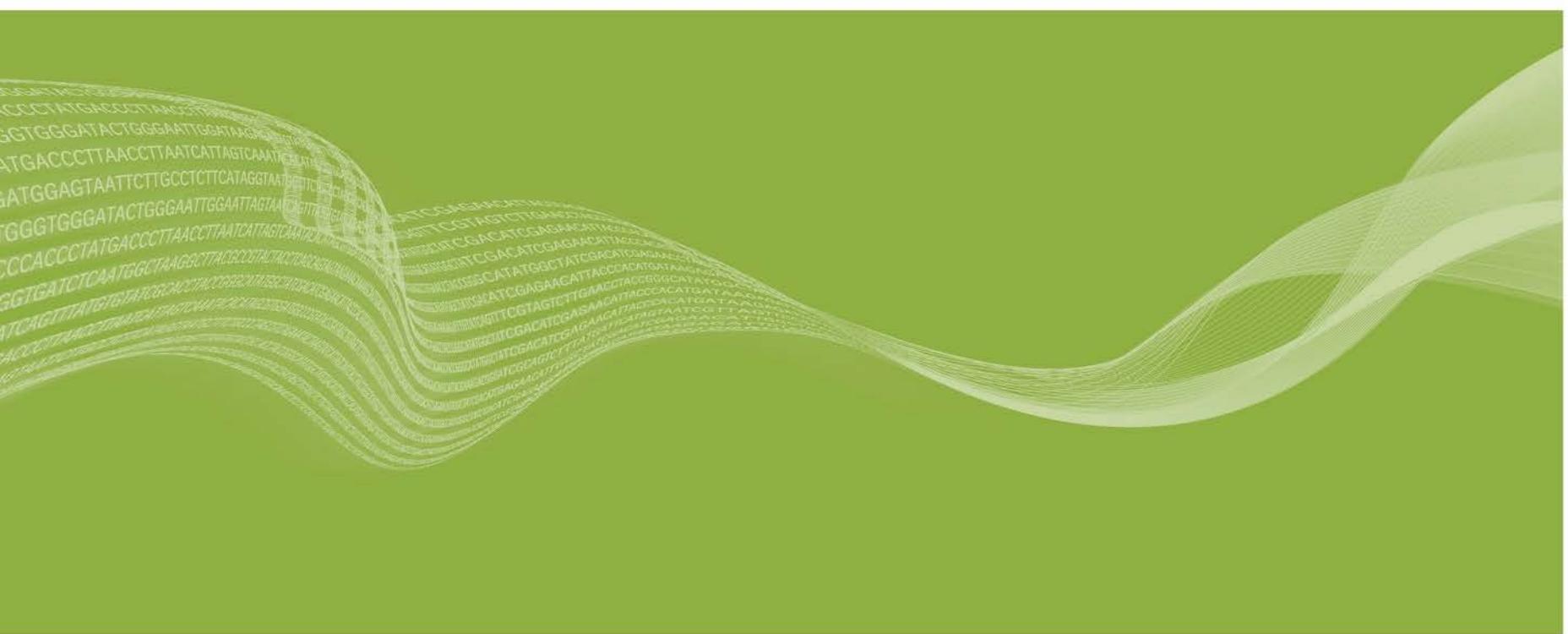
少サンプルプロジェクトでもコスト効率的な解析を

BRCA1/2パネルをiSeq 100、NextSeqそれぞれで実施した場合のコスト比較

BRCA 1/2 解析のサンプル単価



iSeq 100システムの特長



iSeq 100システムの特長

新しいラボパートナーの提案

低いイニシャルコスト



高いデータ品質



シンプルなワークフロー



5分以内のセットアップ時間



お客様がインストール可能



400万リード、1.2Gb/ランのNGSが驚きの300万円台 低いイニシャルコスト



iSeq 100 システム本体

3,310,000円

予定価格です。本価格に据付、トレーニング費は含まれません。

iSeq 100 i1 試薬 (400万リードのシーケンス試薬)

1キットパッケージ or 4キットパッケージ

113,000円

428,000円

価格は税抜です。
2018年1月時点の価格です。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

illumina®

iSeq 100 ラン仕様

1.2G

塩基

1ランで
12億塩基 の解析

400万

リード

1ランで400万本の
DNA断片のシーケンス

9–17h

ラン時間

シーケンス解析に
かかる合計時間

300bp

リード長

クラスターごとに
2x150 bp 解析

塩基長	リード数	データ量	ラン時間
1x36 bp	400万	144 Mb	9時間
1x50 bp	400万	200 Mb	9時間
1x75 bp	400万	300 Mb	10時間
2x75 bp	800万	600 Mb	13時間
2x150 bp	800万	1.2 Gb	17時間

実績あるSBSケミストリーが実現する高品質データ

高いデータ品質、MiSeq と比較



MiSeq

メトリックス	スペック
R1 Error	<1%
R2 Error	<1.5%
Q30	85%

iSeq 100

メトリックス	目標値	実測値	S.D.
R1 Error	<1%	0.36	0.09
R2 Error	<1.5%	0.36	0.15
Q30	>75%	86%	4.3
\$Align	>95%	98.2%	0.36
ReadsPF	>4M	5.5M	0.24

PhiXコントロールでのデータ

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

illumina®

新型カートリッジ、5分以内のランセットアップ完了

iSeq 100 に最適化された刷新されたシンプルなワークフロー



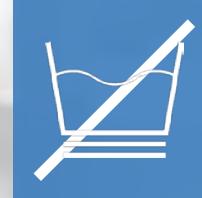
カートリッジ化された試薬が ハンズオン時間の短縮とセット時のエラーの軽減に



キット付属のRFIDによりラン条件の管理とサンプル選択ミスを防止

CCTGACCCAG
TTTCCATTGGC
ATGGATTAG**CA**
AGTCAAGTCA
CCTGACCC**AGA**
ATT**T**CCATTGG

装置内でのライブラリー変性によりシーケンスまでのステップ短縮



ラン後のウォッシュ不要



iSeq 100で新しく導入したテクノロジー



ライブラリーポート

新しいデザインのカートリッジ

溶解してライブラリーをロードしたらすぐシーケンス

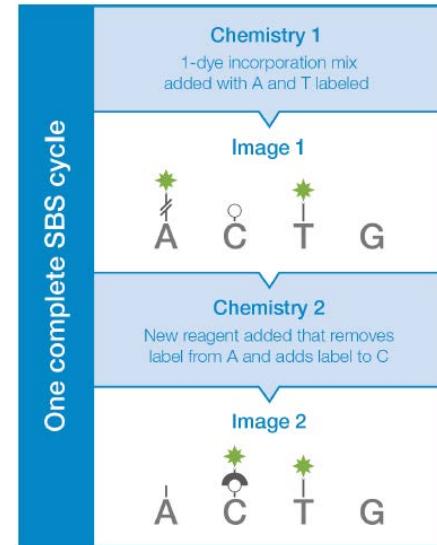
流路がカートリッジ内で完結しており装置のウォッシュ、廃液ボトル不要。ラン間のキャリーオーバーなし



鍵型の新しいフローセル

CMOS(Complementary Metal-Oxide-Semiconductor)センサー内蔵

ラン時間の短縮 (~17時間)



1色蛍光の新しいケミストリー

1サイクルで2枚写真を撮るタイプの1色蛍光のSBSケミストリーを採用

これまでのケミストリーと同等の精度

iSeq 100のワークフローは弊社ウェブサイトで公開

https://youtu.be/3-X_pJ092Uw



ターゲット設計から解析までワークフローをサポート シンプルなワークフロー

~2 時間
ハンズオンタイム



17 時間
シーケンスラン



2 時間
データ解析



ターゲット領域のデザイン

ライブラリー調製

シーケンス

二次解析

DesignStudio

カスタムパネル設計の場合

Nextera XT & Flex

小さいサイズのゲノム解析
ロングレンジPCRアンプリコン

iSeq 100シーケンス

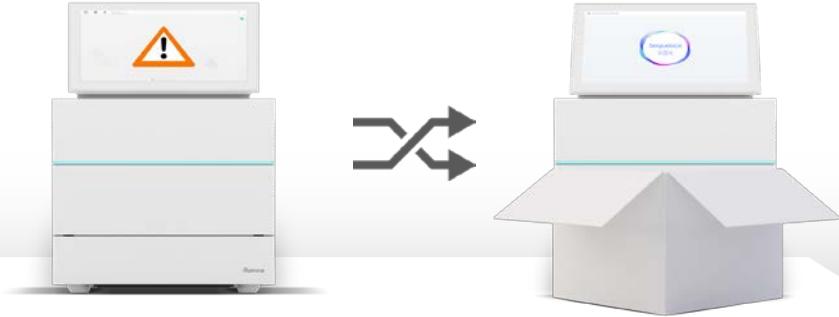
CMOSシーケンス
1.2 Gb, 400万リード
2x150 bp, 17時間
装置内のライブラリー変性、希釈ワークフロー

Local Run Manager & BaseSpace Seq Hub

Local Run Manager (LRM)
解析モジュール
BaseSpace Sequence Hub
で解析可能
BCL/FASTQのアウトプット
ファイルフォーマット

簡単なインストール作業と追加サービス

お客様ご自身でインストール可能、ダウントIMEを最小限にするサポートモデル



お客様でインストール可能

- ビデオでガイドされる分かりやすい操作手順
- 迅速で簡単な装置の検証作業
- イルミナエンジニアのインストール作業も追購入可能

修理時は速やかに交換可能

- 調整が必要な装置は速やかに交換
(日本での修理対応は未定です)

テストカートリッジとテストフローセル

iSeq 100システムの動作チェック

テストキットの用途

■機械的動作チェック

トレイ、ギア、ポンプなどの稼動部の動作チェック

■温度調整のチェック

適正な反応温度維持に必要なヒーティングシステムのチェック

■光学チェック

正確なシーケンス取得に必要なレーザーおよびカメラのチェック

テストカートリッジと
テストフローセルの保存可能期間

5 年 *or* 35 回



iSeq 100システムの特長 まとめ

低コストと使い勝手を追求した設計によりあらゆるラボにフィット

低いイニシャルコスト



高いデータ品質



シンプルなワークフロー



5分以内のセットアップ時間



お客様がインストール可能



アプリケーションの紹介



iSeq 100に対応する主なライブラリー調製キット

Nextera DNA FlexとAmpliSeq™ for Illumina



Nextera DNA Flex



AmpliSeq™ for Illumina

特徴

イルミナのライブラリー調製キットの中で最短のワークフロー

幅広いアプリケーションに対応可能なフレキシビリティ

信頼性のある再現性の高い結果

対象アプリケーション

小さいサイズのゲノムシークエンス

ロングレンジPCRアンプリコン

特徴

唯一で信頼性の高いNGSメーカーからの最適化されたソリューションの提供

確立した高パフォーマンス

シンプルで早いアンプリコンワークフロー

対象アプリケーション

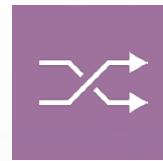
カスタムDNAパネル

カスタムRNAパネル (2018下半期販売開始予定)

4種類のカタログがんパネル

NexTera DNA Flex ライブライリー調製キット

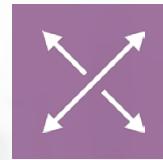
シンプルになったライブライリー調製



幅広いアプリケーションに対応

幅広いインプットDNA量に対応

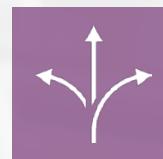
血液、唾液、血痕、コロニーからの
ワークフローを用意



高い安定性と再現性

高いCoverage Uniformity

適正なインサート長



フレキシブルなワークフロー

ライブライリーの濃度調整がワークフローに統合

最小のハンズオン時間



*Demonstrated protocol

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

illumina®

小さいサイズの全ゲノムシークエンス- 実験計画

Prepare Library | Sequence | Analyze Data

illumina®

Microbial Whole-Genome Sequencing with the iSeq™ 100 Sequencing System

Fast and efficient sequencing that provides uniform coverage and genome assembly for microbial species.

Highlights

- Streamlined Workflow
Achieve a comprehensive workflow from DNA to data
- Optimized Library Prep
Obtain robust, consistent results over a wide range of DNA input, even at low DNA input amounts (1 ng)
- Comprehensive Coverage
Produce sequencing data with uniform coverage for viruses, bacteria, and other microbes

Introduction

Next-generation sequencing (NGS) has been established as an important tool in microbiology research for analysis of small genomes (≤ 5 Mb), including bacteria, viruses, and other microbes. Microbial NGS, including whole-genome sequencing (WGS) and targeted sequencing, enables mapping and de novo assembly of novel organisms, comparing genomes of known organisms, and comparing genomes across samples.

The development of Nextera™ chemistry shortens and simplifies library preparation by consolidating DNA fragmentation and adapter ligation steps into a single reaction (termed segmentation) and eliminating the need for library quantitation before pooling and sequencing.¹ The Nextera DNA Flex Library Preparation Kit represents the next step in the evolution of Illumina library prep. In addition to speed and efficiency gains in the workflow, Nextera DNA Flex offers exceptional flexibility for sample input type and amount and robust, consistent preparation of sequencing-ready libraries.

Figure 1: The iSeq 100 System—The iSeq 100 System harnesses the power of NGS in the most affordable, compact benchtop sequencing system in the Illumina portfolio.

Figure 2: Microbial Sequencing Workflow—Microbial sequencing on the iSeq 100 System is part of a streamlined, comprehensive NGS workflow that includes Nextera DNA Flex library preparation, sequencing, and data analysis.

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

770-2017-034-A | 1

B. cereus (35% GC), E. coli (51% GC), and R. Sphaeroides (69%)の3株からゲノムDNAを抽出しライブラリーを調製

ゲノムDNAはNexTera DNA Flexのプロトコールで断片化

1 ng インプットDNA/サンプル

濃度をそろえた後でプールして下記のイ
ルミナNGSで 2x151 bp の解析

- iSeq 100 (2x)
- MiSeq
- MiniSeq

<https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appnotes/iseq100-microbial-app-note-770-2017-034.pdf>

Nextera DNA Flexで小さいサイズのWGS

iSeq 100と他のイルミナNGSでのエラーレートの比較

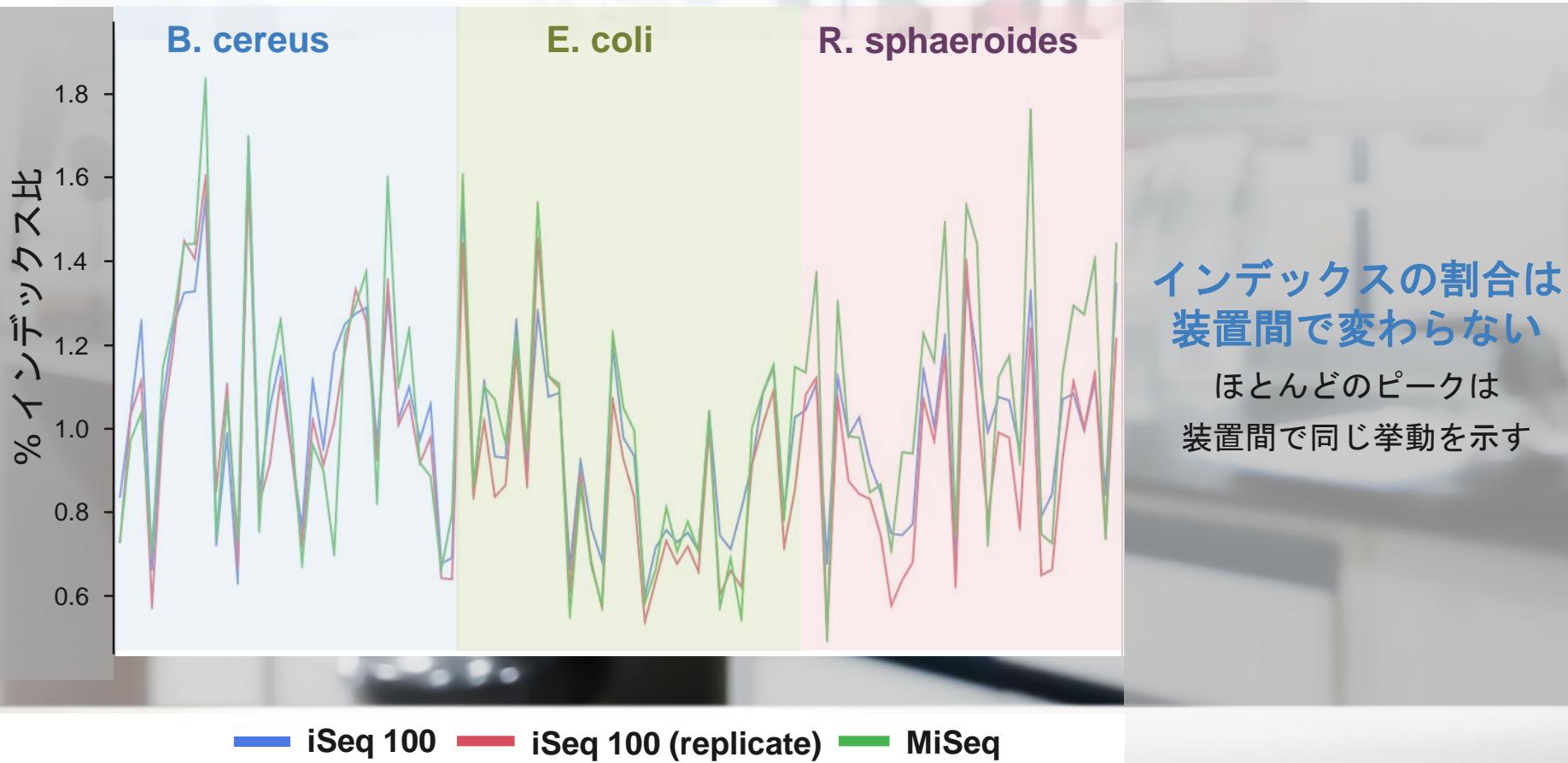
	iSeq 100		MiSeq		MiSeq*		NextSeq**	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
phiX %エラー (RTA)	0.43	0.74	0.84	1.02	0.39	0.50	1.07	1.17
Bacillus cereus %エラー (bwa)	0.14	0.44	0.68	0.74	ND	ND	0.56	0.75
Escherichia coli %エラー (bwa)	0.14	0.46	0.62	0.94	0.17	0.31	0.88	1.12
Rhodospirillaceae %エラー (bwa)	0.29	0.56	0.51	0.75	0.19	0.35	1.53	1.56

エラーレート: ミスコールされた塩基の割合

* MiSeq™ 48plexでラン (32 Ecoli+16 Rhodo, no Bcere)

** NextSeq™ 96plexでラン(32 Ecoli + 32 Rhodo + 32 Bcere)

Nextera DNA Flex: MiSeqと遜色のないデータ インデックスの存在比



ミトコンドリアシークエンス-実験計画

Prepare Library | Sequence | Analyze Data

illumina®

Mitochondrial DNA Sequencing on the iSeq™ 100 Sequencing System

Uncover a comprehensive picture of the mitochondrial genome.

Highlights

- Cost-Efficient Mitochondrial Sequencing
- Rapid, affordable analysis of the entire mitochondrial genome
- Simple, DNA-to-Data Solution
- Supported workflow from library prep to data analysis
- Exceptional Data Accuracy
- Highly accurate data for the detection of new variants and transcripts compared to qPCR or Sanger sequencing

Introduction

The mitochondrial genome comprises all of the DNA located within mitochondria, organelles important for energy conversion and other cellular functions. Mitochondrial DNA (mtDNA) is organized as a circular, double-stranded DNA molecule that is ~16,000 base pairs in length and codes for 37 genes. In humans (and most animals), mitochondria and mtDNA are maternally inherited during sexual reproduction.^{1,2}

Mitochondrial diseases are a heterogeneous group of disorders caused by mitochondrial dysfunction, resulting from inherited or somatic mutations in mtDNA or nuclear genes that code for mitochondrial components. Genetic defects in mtDNA include point mutations, deletions, and copy number variations (CNVs).³ Studying mutations associated with mitochondrial diseases remains challenging due to phenotypic variability and genetic heterogeneity among individuals. Adding to this complexity is the heteroplasmic nature of mtDNA mutations, which is similar to genetic mosaicism, but on a subcellular, organelle level.

Figure 1: The iSeq 100 System—The iSeq 100 System harnesses the power of NGS in the most affordable, compact benchtop sequencing system in the Illumina portfolio.

Conventional analysis of the mitochondrial genome often starts with PCR-based screening for common point mutations and large deletions. If negative, Sanger sequencing of the entire mitochondrial genome is used to attempt to identify less common variants. However, conventional Sanger sequencing is not sensitive enough to detect low-level heteroplasmy and is not reliable in quantifying the level of heteroplasmy.³ Mitochondrial genome sequencing with next-generation sequencing (NGS) technology addresses these challenges, enabling comprehensive detection and analysis of mtDNA mutations, enabling comprehensive detection and analysis of mtDNA mutations.

Mitochondrial Sequencing with the iSeq 100 System

Figure 2: Mitochondrial Sequencing Workflow—Mitochondrial sequencing on the iSeq 100 System is part of a streamlined, comprehensive NGS workflow that includes Nextera Flex library preparation, sequencing, and data analysis.

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

770-2017-033-A | 1

NA12878 human gDNAから**2本のmtDNAアンプリコンを作製**

アンプリコンはそれぞれ**NexTera Flex**のプロトコールで断片化

1 ng インプットDNA/サンプル

濃度をそろえた後でプールして下記のイルミナNGSで **2x151 bp**の解析

- iSeq 100 (2x)
- MiSeq
- MiniSeq

200,000 リード/サンプル

解析は**BaseSpace Seq Hub**の
mtDNA Variant Analyzer appで実施

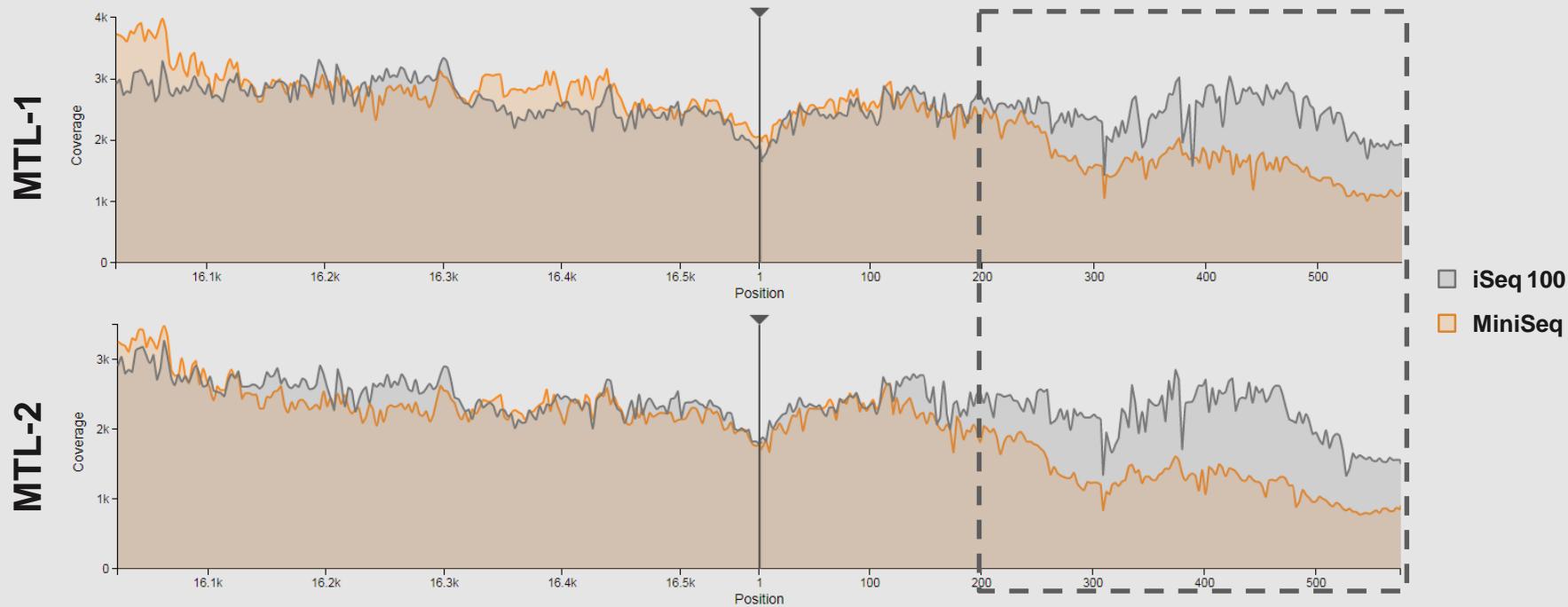
<https://jp.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appnotes/iseq100-mitochondrial-app-note-770-2017-033.pdf>

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

illumina®

mtDNA D-loop Coverageカバレッジ: iSeq 100とMiniSeqの比較

ミトコンドリアDNAのnon-coding領域のD-Loopの変異は様々なながんで検出される



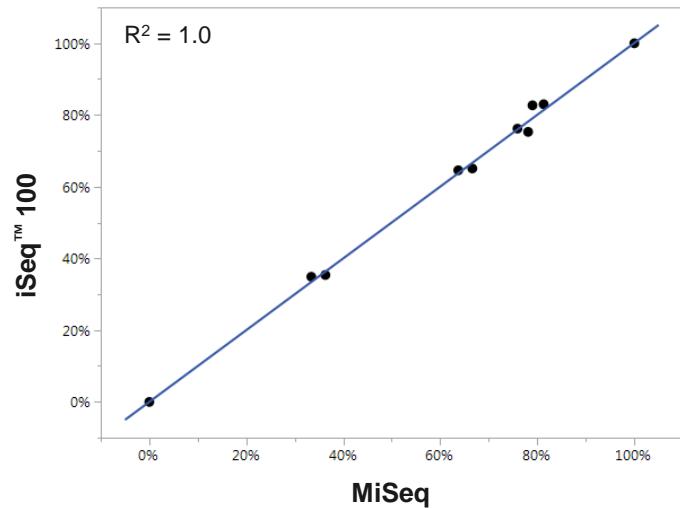
結論

iSeq 100の方がD-loopのカバレッジが均一に取れる

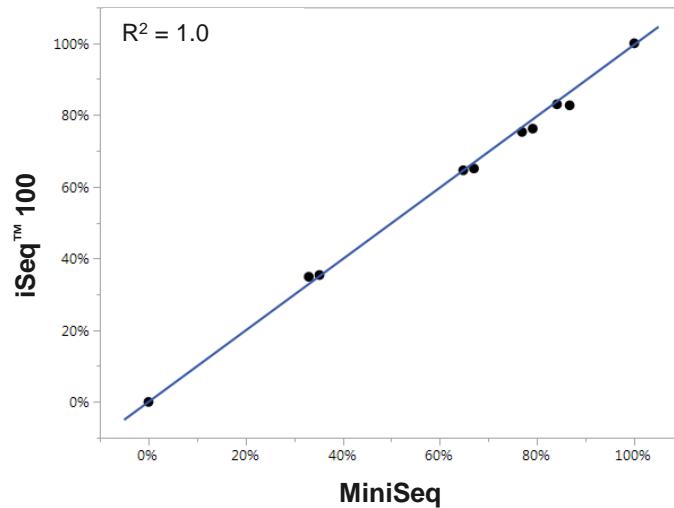
バリエントコールの比較

iSeq 100 vs. MiSeq、MiniSeq

iSeq 100 vs. MiSeq



iSeq 100 vs. MiniSeq



装置間でほぼ同一な結果を取得できる

新製品、AmpliSeq for Illuminaにも対応

業界最高のアンプリコンシーケンスの技術を
業界最高のシーケンステクノロジーで

1

AmpliSeqカスタムパネル

イルミナで提供するオンラインツール
DesignStudioで無料で手軽にカスタムパネルをデザイン

4

AmpliSeq Cancer HotSpot Panel v2 for Illumina

50遺伝子中の2500の変異を解析

2

AmpliSeq Focus Panel for Illumina

1回のDNAおよびRNAワークフローにより、SNV、挿入欠失、融合遺伝子など様々な変異をターゲット

5

AmpliSeq Immune Response Panel for Illumina RNA

臨床治験のコホート研究で予測されたバイオマーカーを解析

3

AmpliSeq BRCA Panel for Illumina

がん抑制遺伝子であるBRCA1 /2のコーディング領域をターゲット

AmpliSeq Cancer HotSpot Panel v2 for Illumina

イルミナベンチトップNGSで素晴らしいパフォーマンス

パネル	Cancer Hotspot Panel v2		
装置	iSeq 100	MiniSeq	MiSeq
SNV Precision	100%	100%	99%
SNV Recall	100%	100%	100%
ユニフォーミティ	100%	99%	100%
特異性	94%	94%	95%
オンターゲット率	85%	85%	86%

207アンプリコンで約2,800 COSMIC バリアントをカバー

50のがん遺伝子、およびがん抑制遺伝子の変異をカバーする

FFPEサンプルに対応

マルチプレックスPCRを一つのチューブ内で反応

対応のアプリケーションまとめ



小さいサイズのゲノムシークエンス

ミトコンドリアゲノムのシークエンス
- 20サンプル/ラン

Plasmid配列のチェック
- 160サンプル/ラン

TruSight HLA V2 kitを使用しての
HLAタイプング
- 160サンプル/ラン

ライブラリーのQCとして使用

イルミナ ベンチトップシーケンサー間での比較



iSeq 100システム



MiniSeqシステム



MiSeqシリーズ+



NextSeqシリーズ+

よく使用されるアプリケーションと手法	主なアプリケーション	主なアプリケーション	主なアプリケーション	主なアプリケーション
大規模全ゲノムシーケンス（ヒト、植物、動物）				●
小規模全ゲノムシーケンス（微生物、ウイルス）	●	●	●	●
エクソームシーケンス				●
ターゲット遺伝子シーケンス（アンブリコン、遺伝子パネル）	●	●	●	●
全トランскriプトームシーケンス				●
mRNA-Seqによる遺伝子発現プロファイリング				●
ターゲット遺伝子発現プロファイリング	●	●	●	
ロングレンジアンブリコンシーケンス	●	●	●	
miRNA解析およびSmall RNA解析	●	●	●	●
DNA-タンパク質相互作用解析			●	●
メチル化シーケンス				●
16Sメタゲノムシーケンス	●	●	●	●

<https://jp.illumina.com/systems/sequencing-platforms.html>

まとめ

- iSeq 100システムを導入することで、こんなことが実現します
 - qPCRやサンガーフロー法と比べて、多ターゲット解析を飛躍的に効率化
 - 低いイニシャルコストで、受託解析を外注していたサンプルも内製化が可能
 - 中/大型NGSとの併用により、あらゆる規模のプロジェクトを効率化
- 低コストと使い勝手を追求した設計により、あらゆるラボにフィットするラボパートナーとしてお使いいただけます
- iSeq 100システムは、ミトコンドリア、プラスミド、小さいゲノムなどのシーケンスに対し、高いパフォーマンスを示します

ご清聴ありがとうございました
ご質問はQ&Aフォームにご記入ください



お見積もりを含め、製品に関する
お問い合わせは「リソースリスト」の
「お問い合わせ」より入力してください。