

# Sistema MiSeq™

Uno strumento  
semplice e rapido per il  
risequenziamento mirato  
e il sequenziamento  
di genomi piccoli

- Eccellente qualità dei dati dimostrata attraverso comparazione scientifica e peer review
- Sistema altamente automatizzato con flusso di lavoro dello strumento intuitivo
- Sequenziamento rapido e rilevamento di varianti per studi critici in termini di tempo
- Possibilità di regolare la lettura e le opzioni della cella a flusso per un'ottima flessibilità in una vasta gamma di applicazioni

illumina®

## Introduzione

Il sistema MiSeq offre la prima piattaforma per il sequenziamento dal DNA ai dati che integra in un unico strumento generazione di cluster, amplificazione, sequenziamento e analisi dei dati. L'ingombro ridotto (circa 0,18 metri quadrati) consente di posizionare lo strumento praticamente in qualsiasi ambiente di laboratorio (Figura 1). Il sistema MiSeq sfrutta la chimica di sequenziamento mediante sintesi (SBS) di Illumina, una collaudata tecnologia di sequenziamento di prossima generazione (NGS) che ormai genera più del 90% dei dati di sequenziamento al mondo.<sup>1</sup> La potenza della tecnologia NGS e la forma compatta dello strumento fanno del sistema MiSeq la piattaforma ideale per un'analisi genetica rapida ed economicamente vantaggiosa.



Figura 1: Sistema MiSeq - Il sistema MiSeq compatto consente un sequenziamento di prossima generazione rapido e conveniente.

## Flusso di lavoro NGS semplice e intuitivo

Il sistema MiSeq è dotato di un software di controllo dello strumento lineare e comprensibile. L'operatore può usufruire dell'interfaccia intuitiva su touch screen, usare cartucce di reagenti plug-and-play con tracciamento RFID (Radio Frequency Identifier), consultare i video tutorial sullo schermo e ricevere istruzioni dettagliate in ogni flusso di lavoro di sequenziamento.

Tutti i sistemi MiSeq consentono l'analisi integrata dei dati e l'accesso a BaseSpace™ Sequence Hub, la piattaforma di calcolo genomico sul cloud di Illumina. BaseSpace Sequence Hub fornisce caricamento dei dati in tempo reale, semplici strumenti di analisi dei dati, monitoraggio della corsa basato su Internet e una soluzione di archiviazione sicura e scalabile. Grazie a una suite di strumenti di analisi dei dati e a una serie crescente di app di analisi di terze parti, i ricercatori possono eseguire tutte le operazioni necessarie. BaseSpace Sequence Hub consente inoltre di condividere i dati con colleghi o clienti in modo facile e veloce.



Figura 2: Flusso di lavoro del sistema MiSeq - Il flusso di lavoro ottimizzato del sistema MiSeq assicura tempi di elaborazione rapidi per il sequenziamento da banco di prossima generazione. Le librerie possono essere preparate con qualsiasi kit di preparazione librerie compatibile. Nel tempo di sequenziamento di cinque ore e mezza vengono eseguiti: generazione di cluster, sequenziamento e identificazione delle basi qualitativamente valutata con scansione a doppia superficie per una corsa di 2 × 25 coppie di basi su un sistema MiSeq con software di controllo MiSeq.

## Tempo di elaborazione veloce

Grazie alla possibilità di preparare le librerie in modo rapido, il sistema MiSeq assicura tempi di elaborazione semplici e accelerati e restituisce i risultati in qualche ora, invece che dopo giorni (Figura 2). Con i reagenti per la preparazione delle librerie Illumina DNA Prep, il sistema MiSeq permette di approntare le librerie di sequenziamento in appena tre ore, per poi passare a operazioni automatizzate come l'amplificazione clonale, il sequenziamento e l'identificazione delle basi qualitativamente valutata, che, a loro volta, non richiedono più di 5,5 ore (Tabella 1). L'allineamento delle sequenze può essere completato entro tre ore direttamente sul computer integrato nello strumento con il software MiSeq Local Run Manager oppure attraverso BaseSpace Sequence Hub.

## Qualità dei dati eccellente

La chimica SBS di Illumina assicura una qualità dei dati eccellente. Questo metodo basato su terminatori reversibili di proprietà permette il sequenziamento massivo in parallelo di miliardi di frammenti di DNA, rilevando singole basi mentre vengono incorporate in filamenti di DNA in estensione. I coloranti fluorescenti dei terminatori vengono acquisiti via via che ogni dNTP viene aggiunto e poi scisso per consentire l'incorporazione della base successiva. Poiché tutti e quattro i dNTP legati a terminatori reversibili sono presenti durante ogni ciclo, la competizione naturale riduce al minimo le distorsioni dovute all'incorporazione. Le identificazioni delle basi vengono eseguite direttamente dalle misurazioni dell'intensità del segnale durante ogni ciclo, riducendo notevolmente i tassi di errore dei dati non elaborati rispetto ad altre tecnologie. Il risultato finale è un sequenziamento base per base estremamente accurato, che praticamente elimina gli errori contestuali specifici delle sequenze, anche in seno a regioni con sequenze ripetitive e omopolimeriche (Figura 3).<sup>2</sup>

## Ampia suite di applicazioni

Una gamma sempre più ampia di applicazioni di sequenziamento. Grazie a tempi di elaborazione più rapidi e flussi di lavoro semplificati, il sistema MiSeq rappresenta un'alternativa conveniente al sequenziamento per elettroforesi capillare e qPCR per applicazioni come il risequenziamento mirato, il controllo dei cloni, il sequenziamento di ampliconi e l'espressione dell'RNA. Il software Local Run Manager e BaseSpace Sequence Hub offrono flussi di lavoro di analisi ottimizzati per sequenziamento di piccoli genomi, metagenomica 16S, sequenziamento dell'RNA, risequenziamento mirato e screening genetico preimpianto (PGS), così come applicazioni con multiplex elevato quale il sequenziamento di ampliconi con AmpliSeq™ per i pannelli di Illumina. La possibilità di regolare la lettura, le opzioni della cella a flusso e la scelta di letture unidirezionali o paired-end offrono la flessibilità necessaria per adattare l'output dei dati a una vasta gamma di esigenze sperimentali.

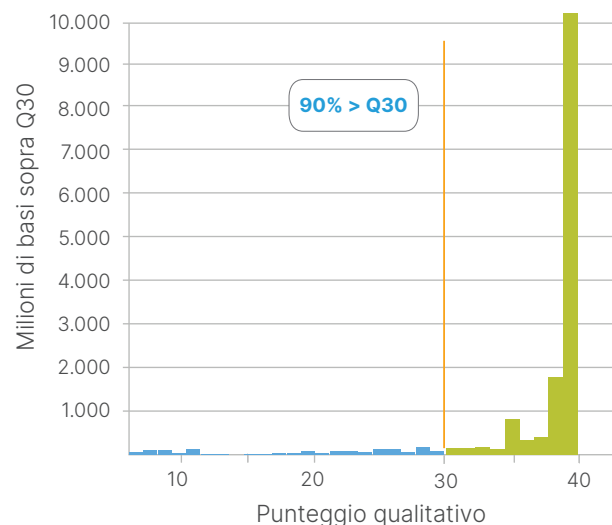


Figura 3: Distribuzione del punteggio qualitativo del sistema MiSeq - Punteggi qualitativi per una libreria campione di controllo PhiX, corsa di 2 × 300 coppie di basi su un sistema MiSeq con software di controllo MiSeq v2.4. Questo esempio mostra il 90% delle basi sequenziate sopra Q30.

Tabella 1: Parametri delle prestazioni del sistema MiSeq

Lunghezza lettura	Tempo totale <sup>a</sup>	Output	Punteggi qualitativi <sup>b</sup>	Lecture unidirezionali <sup>c</sup>	Lecture paired-end <sup>c</sup>
<b>MiSeq Reagent Kit v2</b>					
2 × 25 bp	circa 5,5 ore	750-850 Mb	oltre il 90% delle basi con punteggio superiore a Q30		
2 × 150 bp	circa 24 ore	4,5-5,1 Gb	oltre l'80% delle basi con punteggio superiore a Q30	12-15 milioni	24-30 milioni
2 × 250 bp	circa 39 ore	7,5-8,5 Gb	oltre il 75% delle basi con punteggio superiore a Q30		
<b>MiSeq Reagent Kit v3</b>					
2 × 75 bp	circa 21 ore	3,3-3,8 Gb	oltre l'85% delle basi con punteggio superiore a Q30	22-25 milioni	44-50 milioni
2 × 300 bp	circa 56 ore	13,2-15 Gb	oltre il 70% delle basi con punteggio superiore a Q30		
<b>MiSeq Reagent Kit v2 Micro</b>					
2 × 150 bp	circa 19 ore	1,2 Gb		4 milioni	8 milioni
<b>MiSeq Reagent Kit v2 Nano</b>					
2 × 150 bp	circa 17 ore	300 Mb		1 milione	2 milioni
2 × 250 bp	circa 28 ore	500 Mb			

a. Il tempo totale include la generazione di cluster, il sequenziamento e l'identificazione delle basi su un sistema MiSeq abilitato alla scansione a doppia superficie.

b. La percentuale di basi con punteggio superiore a Q30 rappresenta la media dell'intera corsa.

c. Specifiche di installazione basate sulla libreria campione di controllo PhiX di Illumina a densità di cluster supportate tra 467-583 k/mm<sup>2</sup> di cluster che attraversano il filtro per chimica v2 e 727-827 k/mm<sup>2</sup> di cluster che attraversano il filtro per chimica v3. Gli attuali parametri delle prestazioni possono variare in base al tipo di libreria, alla qualità della libreria e ai cluster che attraversano il filtro.

## Maggiori informazioni

Per maggiori informazioni sul sistema MiSeq, visitare la pagina Web [illumina.com/systems/sequencing-platforms/miseq.html](http://illumina.com/systems/sequencing-platforms/miseq.html).

## Bibliografia

1. Calcoli dei dati in archivio. Illumina, Inc., 2017.
2. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53-59.

## Specifiche del sistema MiSeq

Parametro	Specifica
Configurazione dello strumento	Monitoraggio RFID dei materiali di consumo Software di controllo MiSeq Software Local Run Manager
Computer di controllo dello strumento (interno) <sup>a</sup>	Unità base: Intel Core i7-2710QE con CPU da 2,10 GHz Memoria: 16 GB di RAM Drive: SSD da 1 TB Sistema operativo: Windows 10 Enterprise LTSC
Ambiente operativo	Temperatura: 22 °C ± 3 °C Umidità: 20-80% senza condensa Altitudine: inferiore a 2.000 m Qualità dell'aria: grado di inquinamento 2 Ventilazione: massimo 1.364 BTU/h Per uso esclusivo in interni
Diodo a emissione luminosa (LED)	530 nm e 660 nm
Dimensioni	L × P × A: 68,6 cm × 56,5 cm × 52,3 cm Peso: 57,2 kg Peso con imballaggio: 93,6 kg
Requisiti di alimentazione	100-240 V c.a., 50/60 Hz, 10 A, 400 W
Identificazione a radio frequenza (RFID)	Frequenza: 13,56 MHz Potenza: 100 mW
Sicurezza e conformità del prodotto	Certificato secondo IEC 61010-1 da un NRTL (Nationally Recognized Testing Laboratory) Marcatura CE Approvato FCC/IC

a. Specifiche del computer soggette a cambiamento.

## Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
Sistema MiSeq	SY-410-1003
MiSeq Reagent Kit v2 (50 cicli) <sup>a</sup>	MS-102-2001
MiSeq Reagent Kit v2 (300 cicli) <sup>a,b</sup>	MS-102-2002
MiSeq Reagent Kit v2 (500 cicli) <sup>a,b</sup>	MS-102-2003
MiSeq Reagent Kit v3 (150 cicli) <sup>b</sup>	MS-102-3001
MiSeq Reagent Kit v3 (600 cicli) <sup>b</sup>	MS-102-3003
MiSeq Reagent Micro Kit v2 (300 cicli) <sup>b</sup>	MS-103-1002
MiSeq Reagent Nano Kit v2 (300 cicli) <sup>b</sup>	MS-103-1001
MiSeq Reagent Nano Kit v2 (500 cicli)	MS-103-1003

a. Confezione da 20 pacchi disponibile  
b. Prodotti Illumina Advantage disponibili; i materiali di consumo con etichetta TG presentano caratteristiche che aiutano i clienti a ridurre la frequenza della riconvalida. Tali materiali di consumo sono disponibili solo in base a un contratto di fornitura e ai clienti è richiesto di fornire una previsione vincolante. Per maggiori informazioni, contattare il responsabile di zona.

# illumina®

1.800.809.4566 numero verde (USA) | +1.858.202.4566 telefono  
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2021 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per specifiche informazioni sui marchi, consultare [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-00006 v1.0 ITA