

MiSeq™-System

Gebündelte Leistungsfähigkeit. Geschwindigkeit und Einfachheit für die zielgerichtete Resequenzierung und die Sequenzierung kleiner Genome.

Vorteile

- Außergewöhnliche Datenqualität**
 Peer-Review-Verfahren und wissenschaftliche Vergleiche zeigten nachweislich eine hervorragende Qualität der Daten
- Einfacher und intuitiver Geräte-Workflow**
 Das hochautomatisierte System bietet eine einfache, anwenderfreundliche Geräte-Benutzeroberfläche
- Kurze Durchlaufzeiten**
 Schnelle Sequenzierung und Variantenerkennung für zeitkritische Untersuchungen
- Umfangreiches Anwendungsspektrum**
 Anpassbare Read-Längen und Fließzellenoptionen bieten eine herausragende Flexibilität für ein breites Anwendungsspektrum



Abbildung 1: MiSeq-System – Das kompakte MiSeq-System ist eine hervorragende Plattform für schnelle und kostengünstige Sequenzierungen der nächsten Generation.

Einleitung

Das MiSeq-System bietet die erste DNA-zu-Daten-Sequenzierungsplattform, die Clusterbildung, Amplifikation, Sequenzierung und Datenanalyse in einem einzigen Gerät vereint. Mit einer Standfläche von nur ca. 0,18 Quadratmetern lässt es sich problemlos in nahezu jede Laborumgebung integrieren ([Abbildung 1](#)). Das MiSeq-System nutzt die SBS-Technologie (Sequencing By Synthesis, Sequenzierung durch Synthese) von Illumina, die weltweit am weitesten verbreitete Sequenzierungsschemie der nächsten Generation.¹ Mit der Leistungsfähigkeit der Sequenzierung der nächsten Generation (Next-Generation Sequencing, NGS) und einem kompakten Gerät ist das MiSeq-System die ideale Plattform für schnelle und kostengünstige Genanalysen.

Einfacher und intuitiver Geräte-Workflow

Das MiSeq-System bietet eine einfache, leicht nachvollziehbare Software zur Gerätesteuerung. Die Bedienung des Geräts erfolgt über eine intuitive Touchscreen-Benutzeroberfläche. Außerdem stehen Plug-and-Play-Reagenzienkartuschen mit RFID-Tracking sowie Video-Anleitungen und Schritt-für-Schritt-Anleitungen für jeden Sequenzierungsworkflow zur Verfügung. Alle MiSeq-Systeme bieten die Datenanalyse im Gerät und Zugriff auf BaseSpace™ Sequence Hub – die Genomanalyseplattform von Illumina. BaseSpace bietet Daten-Upload in Echtzeit, einfache Datenanalyse-Tools, internetbasierte Überwachung der Läufe und eine sichere, skalierbare Speicherlösung. Mit einer Reihe von Datenanalysetools und einer wachsenden Auswahl an Analyse-Apps von Drittanbietern können Forscher ihre eigene Informatik anwenden. BaseSpace ermöglicht auch einen schnellen und einfachen Datenaustausch mit Kollegen oder Kunden.



Abbildung 2: MiSeq-Workflow – Der optimierte Workflow des MiSeq-Systems ermöglicht kurze Durchlaufzeiten bei der Sequenzierung der nächsten Generation mit einem Tischgerät. Bibliotheken können mit jedem Nextera-Bibliotheksvorbereitungs-Kit vorbereitet werden. Die Sequenzierungsdauer von 5,5 Stunden umfasst die Clusterbildung, die Sequenzierung und das qualitativ benotete Base-Calling mit der Bildgebung von zwei Oberflächen für einen Lauf mit 2 × 25 Basenpaaren auf einem MiSeq-System mit der MiSeq Control Software.

Tabelle 1: Leistungsparameter des MiSeq-Systems

Read-Länge	Gesamtdauer ^a	Ausgabe	Qualitäts-Scores ^b	Single-Reads ^c	Paired-End-Reads ^c
MiSeq-Reagenzien-Kit v2					
2 x 25 bp	~5,5 Stunden	750–850 Mb	> 90 % der Basen über Q30		
2 x 150 bp	~24 Stunden	4,5–5,1 Gb	> 80 % der Basen über Q30	12–15 Mio.	24–30 Mio.
2 x 250 bp	~39 Stunden	7,5–8,5 Gb	> 75 % der Basen über Q30		
MiSeq-Reagenzien-Kit v3					
2 x 75 bp	~21 Stunden	3,3–3,8 Gb	> 85 % der Basen über Q30	22–25 Mio.	44–50 Mio.
2 x 300 bp	~56 Stunden	13,2–15 Gb	> 70 % der Basen über Q30		
MiSeq-Reagenzien-Kit v2 Micro					
2 x 150 bp	~19 Stunden	1,2 Gb		4 Mio.	8 Mio.
MiSeq-Reagenzien-Kit v2 Nano					
2 x 150 bp	~17 Stunden	300 Mb		1 Mio.	2 Mio.
2 x 250 bp	~28 Stunden	500 Mb			

a. Die Gesamtzeiten umfassen Clusterbildung, Sequenzierung und Base-Calling auf einem MiSeq-System, das über die Funktion zum Scannen von zwei Oberflächen verfügt.

b. Der Prozentsatz der Basen > Q30 wird über den gesamten Lauf gemittelt.

c. Installationspezifikationen auf Basis der PhiX-Kontrollbibliothek von Illumina bei unterstützten Clusterdichten von 467–583 k/mm² Cluster nach Filterung für die v2-Chemie und 727–827 k/mm² Cluster nach Filterung für die v3-Chemie. Die aktuellen Leistungsparameter können je nach Bibliothekstyp, Bibliotheksqualität und Cluster nach Filterung variieren.

Basenpaare = bp, Megabasen = Mb, Gigabasen = Gb, Millionen = Mio.

Kurze Durchlaufzeiten

Die schnelle Bibliotheksvorbereitung in Verbindung mit dem MiSeq-System vereinfacht und verkürzt die Durchlaufzeit, sodass Ergebnisse statt nach mehreren Tagen bereits nach wenigen Stunden vorliegen (Abbildung 2). Erstellen Sie in nur 90 Minuten Ihre Sequenzierungsbibliothek mit Nextera™ XT-Bibliotheksvorbereitungsreagenzien und führen Sie dann die automatisierte klonale Amplifikation, die Sequenzierung und das qualitativ benotete Base-Calling auf dem MiSeq-Gerät in nur 5,5 Stunden durch. Das Sequenzalignment kann mit der MiSeq Local Run Manager-Software direkt auf dem integrierten Gerätecomputer oder über BaseSpace Sequence Hub innerhalb von drei Stunden durchgeführt werden.

Außergewöhnliche Datenqualität

Die SBS-Chemie von Illumina ist die am weitesten verbreitete Technologie für die Sequenzierung der nächsten Generation. Dank der SBS-Chemie wird eine außergewöhnliche Datenqualität erzielt. Diese proprietäre Methode auf der Basis reversibler Terminatoren ermöglicht die massiv-parallele Sequenzierung von Milliarden von DNA-Fragmenten und erkennt einzelne Basen, wenn diese in parallele DNA-Stränge eingebaut werden. Ein mit Fluoreszenzfarbstoffen markierter Terminator wird dargestellt, während jedes dNTP hinzugefügt und anschließend gespalten wird, um die Integration der nächsten Base zu ermöglichen. Da alle vier mit einem reversiblen Terminator gebundenen dNTPs in jedem Zyklus vorhanden sind, werden Integrationsfehler durch natürliche Mechanismen minimiert.

Das Base-Calling erfolgt bei jedem Zyklus direkt anhand von Signalstärkemessungen, was die Rohfehlerraten im Vergleich zu anderen Technologien erheblich reduziert. Das Ergebnis ist eine äußerst genaue Sequenzierung Base für Base, die sequenzkontextspezifische Fehler praktisch eliminiert, sogar in Bereichen mit repetitiven Sequenzen oder innerhalb von Homopolymeren (Abbildung 3).²

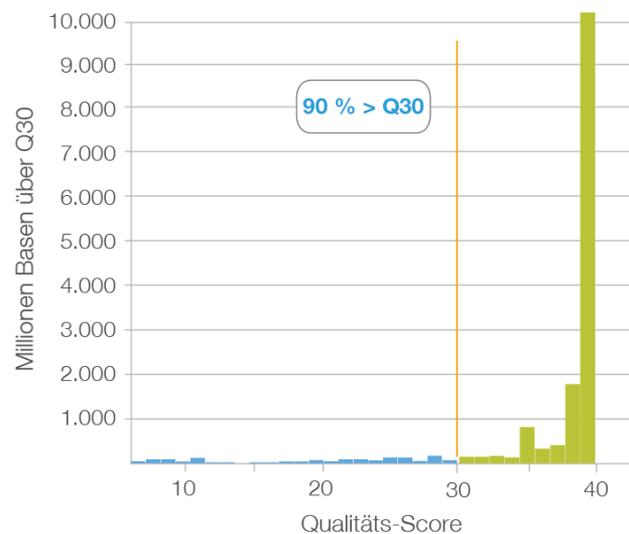


Abbildung 3: Verteilung der MiSeq-Qualitäts-Scores – Qualitäts-Scores für eine PhiX-Kontrollbibliothek, Lauf mit 2 x 300 Basenpaaren auf einem MiSeq-System mit MiSeq Control Software v2.4. Dieses Beispiel zeigt, dass 90 % der Basen mit einem Q-Score über Q30 sequenziert wurden.

Umfangreiches Anwendungsspektrum

Das System lässt sich in der Forschung für einen wachsenden Bereich von Sequenzierungsanwendungen einsetzen. Mit kürzeren Durchlaufzeiten und vereinfachten Workflows ist das MiSeq-System eine kostengünstige Alternative für Anwendungen, wie z. B. die zielgerichtete Resequenzierung, Klonprüfung, Amplikon-Sequenzierung und RNA-Expression, gegenüber der Sequenzierung mittels Kapillarelektrophorese und qPCR. Die Local Run Manager-Software und BaseSpace Sequence Hub bieten optimierte Analyse-Workflows für die Sequenzierung kleiner Genome, die 16S-Metagenomik, die RNA-Sequenzierung, die zielgerichtete Resequenzierung und das genetische Präimplantationsscreening (PGS) sowie für hochmultiplexierte Anwendungen, z. B. AmpliSeq™ für Illumina. Anpassbare Read-Längen, Fließzellenoptionen und die Wahl zwischen einzelnen und Paired-End-Reads ermöglichen eine beispiellose Flexibilität beim Abgleich der Datenausgabe für ein breites Spektrum an experimentellen Anforderungen.

Tabelle 2: Spezifikationen für das MiSeq-System

Parameter	Spezifikationen
Gerätekonfiguration	RFID-Tracking für Verbrauchsmaterialien MiSeq Control Software Local Run Manager-Software
Gerätesteuerungscomputer (intern)^a	Basiseinheit: Intel Core i7-2710QE 2.10 GHz CPU Arbeitsspeicher: 16 GB RAM Festplatte: 750 GB Betriebssystem: Windows 7 standardmäßig vorinstalliert
Betriebsbedingungen	Temperatur: 22 °C ± 3 °C Luftfeuchtigkeit: 20 %–80 % nicht kondensierend Höhe: unter 2.000 m Luftqualität: Verschmutzungsgrad II Belüftung: maximal 1.364 BTU/h Nur für den Innengebrauch
Leuchtdiode (LED)	530 nm, 660 nm
Abmessungen	BxTxH: 68,6 cm x 56,5 cm x 52,3 cm Gewicht: 57,2 kg Bruttogewicht: 93,6 kg
Leistungsbedarf	100–240 V Wechselstrom bei 50/60 Hz, 10 A, 400 W
RFID (Radio Frequency Identification)	Frequenz: 13,56 MHz Leistung: 100 mW
Produktsicherheit und Compliance	NRTL-Zertifizierung IEC 61010-1 CE-Kennzeichnung FCC/IC-Zulassung

a. Änderungen der Computerspezifikationen vorbehalten.

Bestellinformationen

Instrument Name (Gerätename)	Katalog-Nr.
MiSeq-System	SY-410-1003

Weitere Informationen

Weitere Informationen zum MiSeq-System finden Sie unter www.illumina.com/systems/sequencing-platforms/miseq.html.

Quellen

1. Archivierte Datenberechnungen. Illumina, Inc., 2015..
2. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. (2008) [Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry](#). *Nature* 456(7218):53-59.

Illumina, Inc. • Tel. USA (gebührenfrei) 1.800.809.4566 • Tel. außerhalb Nordamerikas +1.858.202.4566 • techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2018 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Eigentümer. Weitere Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html. Pub.-Nr. 770-2011-001-B DEU QB 6456

