

Sistema MiSeq™

Efficacia mirata. Velocità e semplicità per il risequenziamento mirato e il sequenziamento del genoma piccolo.

Punti principali

- Qualità dei dati eccellente**
 Dati di elevata qualità dimostrati mediante il confronto di documenti scientifici e documenti rivisti da esperti (peer-reviewed)
- Flusso di lavoro dello strumento semplice e intuitivo**
 Sistema altamente automatizzato che dispone di un'interfaccia dello strumento semplice e di facile utilizzo
- Tempo di elaborazione veloce**
 Sequenziamento rapido e rilevamento di varianti per studi in cui i tempi sono critici
- Ampio gruppo di applicazioni**
 Ampia gamma di applicazioni che offre lunghezza di lettura regolabile e opzioni di cella a flusso per ottenere la massima flessibilità



Figura 1: Sistema MiSeq: il sistema MiSeq è compatto ed è adatto per il sequenziamento di nuova generazione rapido ed economico.

Introduzione

Il sistema MiSeq offre, in un singolo strumento, la prima piattaforma di sequenziamento dal DNA ai dati, integrando la generazione dei cluster, l'amplificazione, il sequenziamento e l'analisi dei dati. Grazie a un piccolo ingombro di circa due metri quadrati si adatta virtualmente a qualsiasi ambiente di laboratorio (Figura 1). Il sistema MiSeq sfrutta la tecnologia di sequenziamento mediante sintesi (Sequencing By Synthesis, SBS) Illumina, la più utilizzata chimica di sequenziamento di nuova generazione in tutto il mondo.¹ Grazie all'efficacia del sequenziamento di nuova generazione (Next-Generation Sequencing, NGS) e al piccolo ingombro, il sistema MiSeq è la piattaforma ideale per le analisi genetiche rapide ed economiche.

Flusso di lavoro dello strumento semplice e intuitivo

Il sistema MiSeq offre un software di controllo semplice e facile da utilizzare. Un'interfaccia intuitiva su touch screen consente di eseguire tutte le funzioni dello strumento. Potrete utilizzare le cartucce di reagenti "plug-and-play" con monitoraggio RFID, i video tutorial da consultare sullo schermo e guide passo passo per tutta la durata di ogni flusso di lavoro. Tutti i sistemi MiSeq includono l'analisi dei dati e l'accesso integrati su BaseSpace™ Sequence Hub: la piattaforma di analisi genomica Illumina. BaseSpace fornisce caricamento dei dati in tempo reale, semplici strumenti di analisi dei dati, monitoraggio della corsa basata su Internet e una soluzione di archiviazione sicura e scalabile. Un gruppo di strumenti di analisi dei dati e un crescente elenco di applicazioni di analisi di terze parti consentono ai ricercatori di eseguire da soli la parte informatica. BaseSpace consente inoltre la condivisione dei dati semplice e veloce con colleghi e clienti.



Figura 2: Flusso di lavoro di MiSeq: il flusso di lavoro ottimizzato del sistema MiSeq consente di ottenere tempi di elaborazione rapidi per il sequenziamento di nuova generazione su strumenti da banco. Le librerie possono essere preparate con qualsiasi kit di preparazione delle librerie Nextera. Le cinque ore e mezza di sequenziamento includono generazione di cluster, sequenziamento e identificazione delle basi qualitativamente valutate con una scansione a doppia superficie per una corsa da 2 × 25 coppie di basi su un sistema MiSeq con MiSeq Control Software.

Tabella 1: Parametri delle prestazioni del sistema MiSeq

Lunghezza lettura	Durata totale ^a	Output	Punteggi qualitativi ^b	Lectture unidirezionali ^c	Lectture paired-end ^c
MiSeq Reagent Kit v2					
2 x 25 bp	circa 5,5 ore	750-850 Mb	più del 90% di basi con punteggio superiore a Q30		
2 x 150 bp	circa 24 ore	4,5-5,1 Gb	più dell'80% di basi con punteggio superiore a Q30	12-15 M	24-30 M
2 x 250 bp	circa 39 ore	7,5-8,5 Gb	più del 75% di basi con punteggio superiore a Q30		
MiSeq Reagent Kit v3					
2 x 75 bp	circa 21 ore	3,3-3,8 Gb	più dell'85% di basi con punteggio superiore a Q30	22-25 M	44-50 M
2 x 300 bp	circa 56 ore	13,2-15 Gb	più del 70% di basi con punteggio superiore a Q30		
MiSeq Reagent Kit v2 Micro					
2 x 150 bp	circa 19 ore	1,2 Gb		4 M	8 M
MiSeq Reagent Kit v2 Nano					
2 x 150 bp	circa 17 ore	300 Mb		1 M	2 M
2 x 250 bp	circa 28 ore	500 Mb			

a. Le durate totali includono la generazione di cluster, il sequenziamento e l'identificazione delle basi su un sistema MiSeq abilitato per la scansione su doppia superficie.

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

c. Le specifiche di installazione si basano su una libreria di controllo PhiX Illumina alle densità cluster supportate tra 467-583 k/mm² di cluster che attraversano il filtro per la chimica v2 e 727-827 k/mm² di cluster che attraversano il filtro per la 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.

coppie di basi = bp, megabasi = Mb, gigabasi = Gb, milioni = M

Tempo di elaborazione veloce

Per ottenere risultati in ore piuttosto che in giorni, la combinazione della rapida preparazione dei campioni e del sistema MiSeq fornisce tempi di elaborazione semplici e accelerati (Figura 2).

Le librerie di sequenziamento vengono preparate in appena 90 minuti con i reagenti di preparazione delle librerie Nextera™ XT, quindi si passa all'amplificazione clonale automatizzata, al sequenziamento e all'identificazione delle basi qualitativamente valutate in appena 5,5 ore sullo strumento MiSeq. L'allineamento delle sequenze può essere completato direttamente sul computer integrato dello strumento con il software MiSeq Local Run Manager o mediante BaseSpace Sequence Hub entro tre ore.

Qualità dei dati eccellente

La chimica SBS Illumina è la tecnologia di sequenziamento di nuova generazione più ampiamente adottata. L'eccellente qualità dei dati si ottiene grazie alla chimica SBS: un metodo proprietario basato su terminatori reversibili che consente il sequenziamento massivo in parallelo di miliardi di frammenti di DNA, rilevando singole basi mentre vengono incorporate in filamenti di DNA in crescita. I coloranti fluorescenti dei terminatori vengono acquisiti via via che ogni dNTP viene aggiunto e poi scisso per consentire l'incorporazione della base successiva. Durante ogni ciclo sono presenti tutti e quattro i dNTP legati ai terminatori reversibili e la competizione naturale riduce al minimo le distorsioni dovute all'incorporazione. Durante ogni ciclo viene eseguita l'identificazione delle basi direttamente dalle misurazioni dell'intensità del segnale, riducendo significativamente le percentuali di errore dei dati non elaborati rispetto ad altre tecnologie.

Il risultato finale è un sequenziamento base per base altamente accurato che elimina praticamente gli errori contestuali specifici delle sequenze, anche in seno a regioni con sequenze ripetitive od omopolimeriche (Figura 3).²

Ampio gruppo di applicazioni

Esplorate una gamma di applicazioni di sequenziamento in continua crescita. Grazie a tempi di elaborazione più rapidi e flussi di lavoro semplificati, il sistema MiSeq offre un'alternativa economica per il sequenziamento mediante elettroforesi capillare e qPCR per applicazioni come il risequenziamento mirato, la verifica dei cloni, il sequenziamento degli ampliconi e l'espressione dell'RNA. Il software Local Run Manager e BaseSpace Sequence Hub offrono flussi di lavoro di analisi ottimizzati per il sequenziamento del genoma piccolo, la metagenomica per l'analisi del gene 16S, il sequenziamento dell'RNA, il risequenziamento mirato e lo screening genetico preimpianto (Preimplantation Genetic Screening, PGS), nonché applicazioni altamente in multiplex come AmpliSeq™ for Illumina. Le lunghezze di lectture regolabili, le opzioni di cella a flusso e la scelta di lectture unidirezionali o paired-end consentono una flessibilità senza precedenti per garantire output dei dati su un'ampia gamma di esigenze sperimentali.

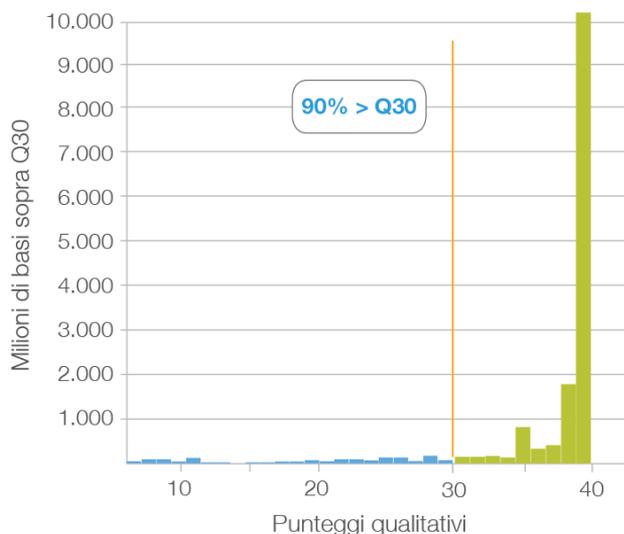


Figura 3: Distribuzione dei punteggi qualitativi con MiSeq: punteggi qualitativi per una libreria di controllo PhiX, corsa da 2 × 300 coppie di basi su un sistema MiSeq con MiSeq Control Software v2.4. Questo esempio mostra che il 90% delle basi sequenziate ha ottenuto un punteggio qualitativo superiore a Q30.

Tabella 2: Specifiche del sistema MiSeq

Parametro	Specifiche
Configurazione dello strumento	Monitoraggio dei materiali di consumo mediante RFID MiSeq Control Software Software Local Run Manager
Computer di controllo dello strumento (interno) ^a	Unità base: CPU Intel Core i7-2710QE 2, 10 GHz Memoria: 16 GB di RAM Disco rigido: 750 GB Sistema operativo: Windows Embedded Standard 7
Ambiente operativo	Temperatura: 22 °C ± 3 °C Umidità: senza condensa 20%-80% 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 imballato: 93,6 kg
Requisiti di alimentazione	100-240 V c.a. a 50/60 Hz, 10 A, 400 Watt
Identificazione a radio frequenza (RFID)	Frequenza: 13,56 MHz Potenza: 100 mW
Sicurezza e conformità del prodotto	Certificazione NRTL IEC 61010-1 Marcatura CE Approvato FCC/IC

a. Specifiche del computer soggette a modifiche.

Informazioni per gli ordini

Nome dello strumento	N. di catalogo
Sistema MiSeq	SY-410-1003

Maggiori informazioni

Per maggiori informazioni sul sistema MiSeq, visitate la pagina Web www.illumina.com/systems/sequencing-platforms/miseq.html.

Bibliografia

1. Calcoli dei dati in archivio. Illumina, Inc., 2015.
2. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. *Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry. Nature.* 2008;456(7218):53-59.

Illumina, Inc. • Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) • Tel. +1.858.202.4566 • techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2018 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitate la pagina Web www.illumina.com/company/legal.html. Pubbl. n. 770-2011-001-B ITA QB n. 6456

illumina[®]