

MiSeq™-System

Schnell und einfach für die gezielte Resequenzierung sowie die Sequenzierung kleiner Genome

- Durch geprüfte wissenschaftliche Vergleiche erwiesene herausragende Datenqualität
- Hochgradig automatisiertes System mit einem einfachen, intuitiven Geräteworkflow
- Schnelle Sequenzierung und Variantenerkennung für Studien, die schnell durchgeführt werden müssen
- Flexibilität in einem breiten Anwendungsspektrum dank anpassbarer Read-Länge sowie Auswahl bei den Fließzellen

illumina®

Einleitung

Beim MiSeq-System handelt es sich um die erste DNA-zu-Daten-Sequenzierungsplattform, die Clusterbildung, Amplifikation, Sequenzierung und Datenanalyse in einem Gerät vereint. Dank des geringen Platzbedarfs (ca. 0,19 Quadratmeter) eignet sich das System für praktisch jede Laborumgebung ([Abbildung 1](#)). Das MiSeq-System nutzt SBS-Chemie (Sequencing by Synthesis, Sequenzierung durch Synthese) von Illumina, eine bewährte NGS-Sequenzierungstechnologie (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation), mit der mehr als 90 % der weltweiten Sequenzierungsdaten generiert werden.¹ Mit der Leistung von NGS und seinen kompakten Abmessungen ist das MiSeq-System die ideale Plattform für die schnelle und kostengünstige Genanalyse.



Abbildung 1: MiSeq-System: Das kompakte MiSeq-System eignet sich bestens für die schnelle, kostengünstige Sequenzierung der nächsten Generation.

Einfacher, intuitiver NGS-Workflow

Das MiSeq-System zeichnet sich durch seine anwenderfreundliche Steuerungssoftware aus. Die Bedienung des Geräts erfolgt über eine intuitive Touchscreen-Benutzeroberfläche. Das System verwendet Plug-and-Play-Reagenzienkartuschen mit RFID-Tracking (Radio Frequency Identification) und bietet On-screen-Videotutorials sowie eine Schritt-für-Schritt-Führung durch sämtliche Sequenzierungsworkflows.

Alle MiSeq-Systeme ermöglichen die Datenanalyse im Gerät sowie Zugriff auf BaseSpace™ Sequence Hub, die Plattform für Genomik-Cloud-Computing von Illumina. BaseSpace Sequence Hub ermöglicht den Upload von Daten in Echtzeit, bietet einfache Datenanalysetools, Laufüberwachung über das Internet sowie eine sichere, skalierbare Speicherlösung. Eine Suite mit Datenanalysetools sowie eine wachsende Anzahl Analyse-Apps von Drittanbietern ermöglichen Forschern die Nutzung eigener Informatiklösungen. Außerdem ermöglicht BaseSpace Sequence Hub die schnelle und einfache Freigabe von Daten für Kollegen und Kunden.



Abbildung 2: Workflow des MiSeq-Systems: Der optimierte Workflow des MiSeq-Systems ermöglicht NGS-Sequenzierung auf einem Tischgerät mit kurzen Durchlaufzeiten. Bibliotheken können mit jedem kompatiblen Bibliotheksvorbereitungskit vorbereitet werden. Die Sequenzierungsdauer von 5,5 Stunden umfasst Clusterbildung, Sequenzierung und qualitativ benotetes Base-Calling mit Scan von zwei Oberflächen für einen Lauf mit 2 × 25 Basenpaaren auf einem MiSeq-System mit MiSeq Control Software.

Kurze Durchlaufzeiten

In Kombination mit der schnellen Bibliotheksvorbereitung zeichnet sich das MiSeq-System durch kürzere Durchlaufzeiten aus und liefert so Ergebnisse in Stunden anstelle von Tagen (Abbildung 2). Die Vorbereitung der Sequenzierungsbibliothek dauert mit Illumina DNA Prep-Bibliotheksvorbereitungsreagenzien nur 3 Stunden. Klonale Amplifikation, Sequenzierung und qualitativ benotetes Base-Calling erfolgen anschließend automatisch in nur 5 Stunden auf dem MiSeq-System (Tabelle 1). Das Sequenz-Alignment lässt sich in 3 Stunden direkt über den Gerätecomputer mit der Software MiSeq Local Run Manager oder über BaseSpace Sequence Hub erledigen.

Außergewöhnliche Datenqualität

Die SBS-Chemie von Illumina erzielt eine herausragende Datenqualität. Diese proprietäre Methode auf der Basis reversibler Terminatoren ermöglicht die massiv-parallele Sequenzierung von Milliarden von DNA-Fragmenten. Dabei werden einzelne Basen erkannt, während sie in wachsende 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 an reversible Terminatoren gebundenen dNTPs in allen Zyklen vorhanden sind, minimieren natürliche Mechanismen Integrationsfehler. Base-Calls erfolgen anhand von Signalstärkemessungen direkt während der einzelnen Zyklen, wodurch sich die Rohfehlerrate im Vergleich zu anderen Technologien deutlich verringert. Hieraus ergibt sich eine hochgenaue Sequenzierung Base für Base, die sequenzierungskontextspezifische Fehler praktisch ausschließt, sogar in Bereichen mit repetitiven Sequenzen oder innerhalb von Homopolymeren (Abbildung 3).²

Umfassende Anwendungssuite

Profitieren Sie von der stetig wachsenden Anzahl an Sequenzierungsanwendungen. Mit kürzeren Durchlaufzeiten und vereinfachten Workflows stellt das MiSeq-System eine kostengünstige Alternative zur Sequenzierung anhand von Kapillarelektrophorese und qPCR für Anwendungen wie die gezielte Resequenzierung, Klonprüfung, Amplikonsequenzierung und RNA-Expression bereit. Die Local Run Manager-Software und BaseSpace Sequence Hub bieten optimierte Analyseworkflows für die Sequenzierung kleiner Genome, die 16S-Metagenomik, die RNA-Sequenzierung, die gezielte Resequenzierung und das genetische Präimplantationsscreening (PGS) sowie hochmultiplexierte Anwendungen wie die Amplikonsequenzierung mit AmpliSeq™ für Illumina-Panels. Anpassbare Read-Längen, verschiedene Fließzellen und eine Auswahl an Single- oder Paired-End-Reads ermöglichen Flexibilität bei der Abstimmung der Datenausgabe auf die Anforderungen zahlreicher Experimente.

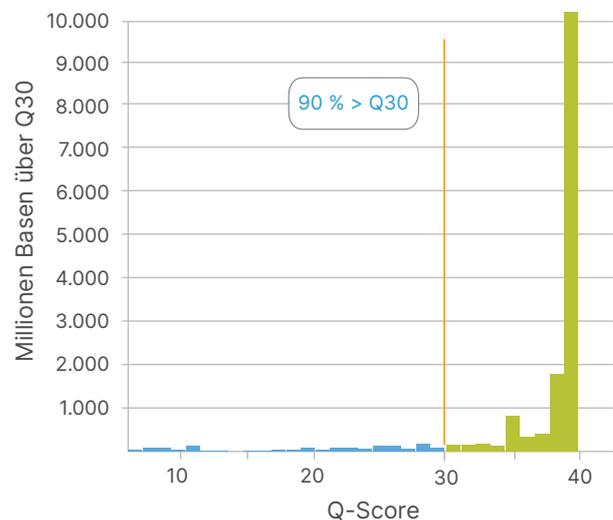


Abbildung 3: Qualitäts-Score-Verteilung des MiSeq-Systems: Qualitäts-Scores für eine PhiX-Kontrollbibliothek, einen Lauf mit 2 × 300 Basenpaaren auf einem MiSeq-System mit MiSeq Control Software v2.4. Dieses Beispiel zeigt, dass ca. 90 % der Basen über Q30 sequenziert werden.

Tabelle 1: Leistungsparameter für das MiSeq-System

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

a. Die Gesamtzeit umfasst Clusterbildung, Sequenzierung und Base-Calling auf einem MiSeq-System mit aktiviertem Scan von zwei Oberflächen.
 b. Der Prozentsatz der Basen > Q30 wird über den gesamten Lauf gemittelt.
 c. Installationspezifikationen basieren auf einer Illumina PhiX-Kontrollbibliothek bei unterstützten Clusterdichten von 467–583 k/mm² Clustern nach Filterung für Chemie der Version 2 und 727–827 k/mm² Clustern nach Filterung für Chemie der Version 3. Die tatsächlichen Leistungsparameter können je nach Bibliothekstyp, Bibliotheksqualität und Cluster nach Filterung variieren.

Weitere Informationen

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

Quellen

1. Archivierte Datenberechnungen. 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.

Spezifikationen des MiSeq-Systems

| Parameter | Spezifikation |
|--|---|
| Geräte-konfiguration | RFID-Tracking für Verbrauchsmaterialien MiSeq Control Software Local Run Manager-Software |
| Geräte-steuerungs-computer (intern) ^a | Basiseinheit: Intel Core i7-2710QE 2,10 GHz CPU Speicher: 16 GB RAM Laufwerk: 1-TB-SSD Betriebssystem: Windows 10 Enterprise LTSC |
| Betriebs-bedingungen | Temperatur: 22 °C ± 3 °C Luftfeuchtigkeit: nicht kondensierend, 20–80 % 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 | B × T × H: 68,6 cm × 56,5 cm × 52,3 cm Gewicht: 57,2 kg Transportgewicht: 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 Mit CE-Prüfzeichen FCC/IC-Zulassung |

a. Änderungen der Computerspezifikationen vorbehalten.

Bestellinformationen

| Produkt | Katalog-Nr. |
|--|-------------|
| MiSeq-System | SY-410-1003 |
| MiSeq Reagent Kit v2 (50 Zyklen) ^a | MS-102-2001 |
| MiSeq Reagent Kit v2 (300 Zyklen) ^{a,b} | MS-102-2002 |
| MiSeq Reagent Kit v2 (500 Zyklen) ^{a,b} | MS-102-2003 |
| MiSeq Reagent Kit v3 (150 Zyklen) ^b | MS-102-3001 |
| MiSeq Reagent Kit v3 (600 Zyklen) ^b | MS-102-3003 |
| MiSeq Reagent Micro Kit v2 (300 Zyklen) ^b | MS-103-1002 |
| MiSeq Reagent Nano Kit v2 (300 Zyklen) ^b | MS-103-1001 |
| MiSeq Reagent Nano Kit v2 (500 Zyklen) | MS-103-1003 |

a. 20er-Packungen erhältlich

b. Illumina Advantage-Produkte erhältlich; Verbrauchsmaterialien mit der Kennzeichnung TG enthalten Merkmale, die dem Kunden helfen, die Häufigkeit der Revalidierung zu reduzieren. Diese Verbrauchsmaterialien können nur im Rahmen eines Liefervertrags erworben werden und der Kunde muss eine verbindliche Prognose bereitstellen. Weitere Informationen hierzu erhalten Sie von Ihrem zuständigen Kundenbetreuer.

illumina®

1.800.809.4566 (USA, gebührenfrei) | +1.858.202.4566 (Tel. außerhalb der USA)
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2021 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Eigentümer. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-00006 v1.0 DEU