

# MiSeq™ System

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 semplice e intuitivo
- Sequenziamento rapido e rilevamento di varianti per studi critici in termini di tempo
- Lunghezza di lettura regolabile e opzioni di cella a flusso offrono flessibilità in una vasta gamma di applicazioni

**illumina**®

## Introduzione

Il MiSeq System 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 MiSeq System sfrutta la chimica di sequenziamento mediante sintesi (SBS, sequencing by synthesis) di Illumina, una comprovata tecnologia di sequenziamento di nuova generazione (NGS, next-generation sequencing) citata in più di 300.000 pubblicazioni "peer-reviewed", il quintuplo di tutte le altre tecnologie NGS combinate.<sup>1</sup> Grazie all'efficacia della tecnologia NGS fornita in uno strumento compatto, il MiSeq System è la piattaforma ideale per analisi genetiche rapide ed efficaci in termini di costi.



Figura 1: MiSeq System. Il MiSeq System è compatto e consente di eseguire il sequenziamento di nuova generazione in modo rapido e conveniente.

## Flusso di lavoro NGS semplice e intuitivo

Il MiSeq System è dotato di un software di controllo dello strumento lineare e facile da eseguire. L'operatore può usufruire di un'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 MiSeq System 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 MiSeq System. Il flusso di lavoro ottimizzato del MiSeq System assicura tempi di elaborazione rapidi per il sequenziamento da banco di nuova generazione. Le librerie possono essere preparate con qualsiasi kit di preparazione delle librerie compatibile. Il sequenziamento dura cinque ore e mezza e include: generazione di cluster, sequenziamento e identificazione delle basi qualitativamente valutate con scansione a doppia superficie per una corsa di 2 × 25 coppie di basi su un MiSeq System con il MiSeq Control Software.

## Tempo di elaborazione veloce

Grazie alla possibilità di preparare le librerie in modo rapido, il MiSeq System 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 MiSeq System permette di preparare le librerie di sequenziamento in appena 3 ore, per poi passare a operazioni automatizzate come l'amplificazione clonale, il sequenziamento e l'identificazione delle basi qualitativamente valutate che, a loro volta, non richiedono più di 5,5 ore (Tabella 1). L'allineamento delle sequenze può essere completato entro 3 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>

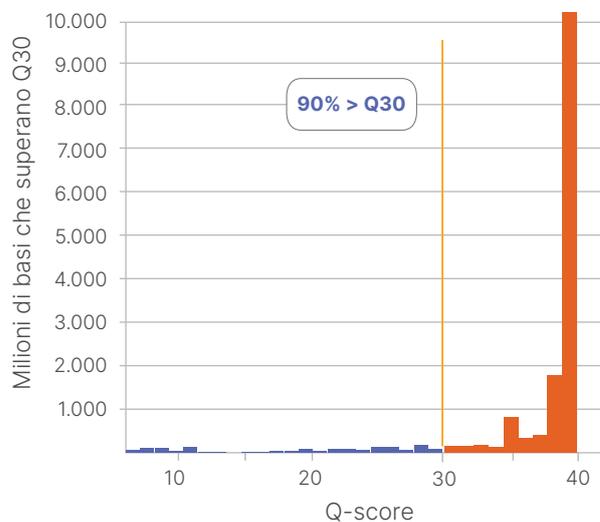


Figura 3: distribuzione del punteggio qualitativo (Q-score) del MiSeq System. Punteggi qualitativi per una libreria di campione di controllo PhiX, corsa di  $2 \times 300$  coppie di basi su un MiSeq System con il MiSeq Control Software v2.4. Questo esempio mostra il 90% delle basi sequenziate sopra Q30.

Tabella 1: parametri delle prestazioni del MiSeq System

Lunghezza lettura	Durata totale <sup>a</sup>	Output	Punteggi qualitativi <sup>b</sup>	Letture unidirezionali <sup>c</sup>	Letture paired-end <sup>c</sup>
<b>MiSeq Reagent Kit v2</b>					
2 × 25 bp	Circa 5,5 ore	750-850 Mb	>90% delle basi con punteggio superiore a Q30		
2 × 150 bp	Circa 24 ore	4,5-5,1 Gb	>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	>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	>85% delle basi con punteggio superiore a Q30	22-25 milioni	44-50 milioni
2 × 300 bp	Circa 56 ore	13,2-15 Gb	>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. La durata totale include la generazione di cluster, il sequenziamento e l'identificazione delle basi su un MiSeq System abilitato alla scansione a doppia superficie.  
 b. La percentuale di basi con punteggio superiore a Q30 rappresenta la media dell'intera corsa.  
 c. Le specifiche di installazione si basano sulla libreria del campione di controllo PhiX di Illumina a densità dei cluster supportate tra 865-965 k/mm<sup>2</sup> di cluster che attraversano il filtro per la chimica v2 e tra 1.200-1.400 k/mm<sup>2</sup> di cluster che attraversano il filtro per la chimica v3. Gli effettivi parametri delle prestazioni potrebbero variare in base al tipo di libreria, alla qualità della libreria e ai cluster che attraversano il filtro.

## 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 MiSeq System 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, Preimplantation Genetic Screening), così come applicazioni con multiplex elevato quale il sequenziamento di ampliconi con i pannelli AmpliSeq™ for Illumina. La possibilità di regolare le lunghezze delle letture, le opzioni di 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.

## Maggiori informazioni

[MiSeq System](#)

## Bibliografia

1. Calcoli dei dati in archivio. Illumina, Inc. 2022.
2. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53-59. doi:10.1038/nature07517.

## Specifiche del MiSeq System

Parametro	Specifica
Configurazione dello strumento	Monitoraggio RFID dei materiali di consumo MiSeq Control Software 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 Unità: disco allo stato solido 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/ora Per uso esclusivo in interni
Diodo a emissione luminosa (LED)	520 nm, 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	90-264 V c.a. 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
MiSeq System	SY-410-1003
MiSeq Reagent Kit v2 (50-cycles) <sup>a</sup>	MS-102-2001
MiSeq Reagent Kit v2 (300-cycles) <sup>a,b</sup>	MS-102-2002
MiSeq Reagent Kit v2 (500-cycles) <sup>a,b</sup>	MS-102-2003
MiSeq Reagent Kit v3 (150-cycle) <sup>b</sup>	MS-102-3001
MiSeq Reagent Kit v3 (600-cycle) <sup>b</sup>	MS-102-3003
MiSeq Reagent Micro Kit v2 (300-cycles) <sup>b</sup>	MS-103-1002
MiSeq Reagent Nano Kit v2 (300-cycles) <sup>b</sup>	MS-103-1001
MiSeq Reagent Nano Kit v2 (500-cycles)	MS-103-1003

a. È disponibile la confezione da 20 pacchi.  
b. Sono disponibili i prodotti Illumina Advantage; 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.



Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566  
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 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, visitare la pagina web [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-00006 ITA v4.0