

MiSeqTM Dx Instrument

Il primo strumento NGS,
regolamentato dalla FDA
e dotato di marcatura CE-IVD
per uso diagnostico *in vitro*

- Un'interfaccia intuitiva su touch screen e un flusso di lavoro automatizzato semplificano il funzionamento dello strumento
- Qualità dei dati eccezionale e affidabilità dimostrata mediante verifiche di sistema complete
- Ampio menu di saggi diagnostici molecolari pensato per l'ambiente di laboratorio clinico
- Piattaforma aperta per saggi IVD personalizzati e possibilità di eseguire altri saggi in modalità di ricerca

illumina®

Descrizione generale

Il MiSeqDx Instrument è la prima piattaforma per il sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing) regolamentata dalla Food and Drug Administration (FDA) con marchio Conformité Européenne per diagnostica *in vitro* (CE-IVD, Conformité Européenne In-Vitro Diagnostic) (Figura 1). Progettato specificatamente per l'ambiente di laboratorio clinico, il MiSeqDx Instrument è caratterizzato da un piccolo ingombro (0,3 metri quadrati), un flusso di lavoro intuitivo e output di dati personalizzati in base alle esigenze dei laboratori clinici. Inoltre, il software integrato sullo strumento consente di impostare la corsa, monitorare i campioni, gestire gli utenti, generare audit trail e interpretare i risultati.* Grazie alla sperimentata tecnologia di sequenziamento mediante sintesi (SBS, Sequencing By Synthesis) di Illumina, il MiSeqDx Instrument fornisce screening e test diagnostici affidabili e accurati.



Figura 1: MiSeqDx Instrument: il MiSeqDx Instrument, regolamentato dalla FDA e dotato della marcatura CE-IVD, offre un flusso di lavoro semplice, un'interfaccia software di facile utilizzo e maggiori livelli di sicurezza per l'utente.

* I report dettagliati sui risultati sono disponibili per i saggi specifici per i target, come TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay e TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay.

Vantaggi della tecnologia NGS

Rispetto al sequenziamento Sanger basato sull'elettroforesi capillare, la tecnologia NGS è in grado di rilevare una più ampia gamma di varianti del DNA, incluse le varianti di bassa frequenza e le varianti adiacenti sottoposte a determinazione delle fasi, che permette di ottenere risultati più veloci e minori fasi di interventi manuali.^{1,2} La chimica SBS di Illumina utilizza la competizione naturale su tutti i quattro nucleotidi marcati, il che riduce le distorsioni dovute all'incorporazione e consente un sequenziamento più efficace di regioni ripetitive e omopolimeri rispetto ad altri sistemi di sequenziamento.³ I risultati completi si ottengono velocemente, eliminando la necessità di tediosi test reflex.

Flusso di lavoro semplice in tre fasi

I saggi eseguiti sul MiSeqDx Instrument seguono una semplice procedura in tre fasi (Figura 2) che inizia con DNA genomico (gDNA, Genomic DNA) estratto da campioni di sangue intero periferico umano o tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE, Formalin-Fixed, Paraffin Embedded). I campioni di DNA vengono quindi preparati per il sequenziamento mediante l'aggiunta di primer, il che permette di generare librerie indicizzate per la cattura e l'amplificazione simultanea di centinaia di regioni target in diversi campioni.

Le librerie preparate vengono sequenziate con una cartuccia di reagenti MiSeqDx preimpilata e pronta all'uso. È sufficiente scongelare la cartuccia, caricare la libreria, inserirla nel MiSeqDx Instrument e avviare il sequenziamento premendo un pulsante.

La tecnologia NGS sul MiSeqDx Instrument utilizza la chimica SBS di Illumina, dove avviene il sequenziamento massivo in parallelo di milioni di frammenti di DNA grazie a un metodo proprietario basato su terminatori reversibili. Le singole basi sono rilevate man mano che vengono incorporate in filamenti di DNA in estensione. Le identificazioni delle basi vengono eseguite direttamente dalle misurazioni dell'intensità del segnale in ciascun ciclo. Per maggiori informazioni sulla chimica SBS, è possibile visitare la pagina Web illumina.com.



Figura 2: Procedura in tre fasi del saggio MiSeqDx: il MiSeqDx Instrument fa parte di una procedura integrata che comprende la preparazione delle librerie e l'analisi dei dati per i test di diagnostica molecolare. I report dettagliati sui risultati sono disponibili per i saggi specifici per i target, come TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay e TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay.

Software di sistema integrato

Il MiSeqDx Instrument offre un software completamente integrato sullo strumento al quale si accede mediante un'interfaccia touch screen di facile utilizzo. Le corse di sequenziamento possono essere pianificate e monitorate con audit trail utilizzando il software Local Run Manager, che supporta il monitoraggio delle librerie e la scelta dei parametri della corsa di sequenziamento. Il software Local Run Manager viene eseguito sul computer dello strumento, il che permette agli utenti di monitorare il progredire della corsa e di visualizzare i risultati dell'analisi da altri computer collegati alla medesima rete. Al termine del sequenziamento, Local Run Manager avvia automaticamente l'analisi dei dati utilizzando uno dei diversi moduli di analisi disponibili. I moduli di analisi specifici per il saggio consentono l'allineamento e l'identificazione di determinate varianti o l'identificazione su regioni target definite dall'utente.

Software di gestione degli utenti

Per assicurare il corretto utilizzo del sistema, il MiSeqDx Instrument è dotato di un sistema integrato di gestione degli utenti. Questo permette ai laboratori di controllare e monitorare l'accesso al sistema, assicurando che le analisi vengano eseguite solo dal personale autorizzato.

Saggi e reagenti disponibili

Diversi saggi e reagenti per diagnostica *in vitro* (IVD, In Vitro Diagnostic) sono attualmente disponibili per l'uso sul MiSeqDx Instrument:[†]

- **TruSight™ Cystic Fibrosis 139-Variant Assay** rileva 139 varianti importanti dal punto di vista clinico e verificate dal punto di vista funzionale nel gene regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (*CFTR*, Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), come definito dal database CFTR2.⁴
- **TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay** rileva le mutazioni nelle regioni codificanti la proteina e nei confini introne/esone del gene *CFTR*.
- **TruSeq™ Custom Amplicon Kit Dx** è una soluzione di sequenziamento a base di ampliconi che consente agli utenti di sviluppare saggi mirati alle varianti genetiche ritenute più importanti; gli utenti progettano le proprie sonde oligonucleotidiche specifiche per le regioni di interesse e utilizzano reagenti MiSeqDx convalidati per preparare le librerie ed eseguire il sequenziamento.

Per una maggiore funzionalità, utilizzare i saggi di preparazione delle librerie di Illumina progettati per l'uso con il MiSeq System sul MiSeqDx Instrument utilizzato in modalità di ricerca.

[†] I report dettagliati sui risultati sono disponibili per i saggi specifici per i target, come TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay e TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay.

Specifiche del MiSeqDx Instrument

Configurazione dello strumento

Monitoraggio RFID dei materiali di consumo
MiSeq Operating Software
Software Local Run Manager

Computer di controllo dello strumento (interno)

Unità base: Intel Core i7-7700 con CPU da 2,9 GHz
Memoria: 2 × 8 GB DDR3 SODIMM
Disco rigido: nessuno
Dischi allo stato solido: 2 × 1 TB SATA
Sistema operativo: Windows 10

Diode a emissione luminosa (LED)

520 nm e 660 nm

Dimensioni

L × P × A: 68,6 cm × 56,5 cm × 52,3 cm
Peso: 54,5 kg
Peso imballato: 90,9 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

Processività

1-96 campioni per corsa, in base al saggio

Parametri delle prestazioni

Lunghezza massima della lettura: fino a 2 × 300 bp (per le specifiche relative al saggio, vedere l'insero della confezione)
Output (2 × 150 bp per corsa): ≥ 5 Gb
Letture che attraversano i filtri: ≥ 15 milioni
Punteggio Q30 (a lunghezza di lettura di 2 × 150 bp): ≥ 80%
Accuratezza, linea germinale:^a > 99,9% OPA^b rispetto ai dati di riferimento
Accuratezza, somatica:^a 100% OPA rispetto ai dati di riferimento
Riproducibilità, linea germinale:^c 99,88% OPA rispetto ai dati di riferimento
Riproducibilità, somatica:^d 99,6% delle identificazioni previste per i campioni mutanti

a. Risultati basati su un saggio rappresentativo TruSeq a base di ampliconi progettato per interrogare diversi geni che coprono 12.588 basi su 23 cromosomi diversi utilizzando 150 ampliconi

b. OPA: percentuale di concordanza complessiva

c. Risultati basati sul Cystic Fibrosis (CF-139) Assay

d. Risultati basati su un saggio rappresentativo a base di ampliconi a 2 geni TruSeq

Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
MiSeqDx Instrument	DX-410-1001
MiSeqDx Reagent Kit v3	20037124
TruSeq Custom Amplicon Kit Dx	20005718
TruSight Cystic Fibrosis Library Prep (supporta TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay e TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay, 96 test)	20036925

Maggiori informazioni

MiSeqDx Instrument, illumina.com/miseqdx.

Diagnostica molecolare, illumina.com/clinical/diagnostics.

Bibliografia

1. Shokralla S, Porter TM, Gibson JF, et al. [Massively parallel multiplex DNA sequencing for specimen identification using an Illumina MiSeq platform](#). *Sci Rep*. 2015;5:9687.
2. Precone V, Monaco VD, Esposito MV, et al. [Cracking the Code of Human Diseases Using Next-Generation Sequencing: Applications, Challenges, and Perspectives](#). *Biomed Res Int*. 2015;161648.
3. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53–59.
4. [Clinical and Functional Translation of CFTR \(CTFR2\)](#). cftr2.org. Consultato il 23 febbraio 2021.

Dichiarazioni di uso previsto

Uso previsto del MiSeqDx Instrument

Il MiSeqDx Instrument è previsto per il sequenziamento mirato di librerie di DNA ottenute da DNA genomico umano estratto da sangue intero periferico o da tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE), quando utilizzato con i saggi per diagnostica *in vitro* (IVD) eseguiti sullo strumento. Il MiSeqDx Instrument non è previsto per il sequenziamento dell'intero genoma o il sequenziamento *de novo*. Il MiSeqDx Instrument è previsto per l'uso con reagenti IVD e software analitici registrati ed elencati, autorizzati o approvati.

Uso previsto del MiSeqDx Reagent Kit v3

Il MiSeqDx Reagent Kit v3 di Illumina è un set di reagenti e materiali di consumo destinato al sequenziamento di librerie di campioni da utilizzare con saggi convalidati. Il MiSeqDx Reagent Kit v3 è destinato all'uso con lo strumento e i software analitici MiSeqDx.

Uso previsto del TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay

Il TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay di Illumina è un sistema diagnostico *in vitro* qualitativo usato per rilevare simultaneamente 139 mutazioni e varianti clinicamente rilevanti che causano la fibrosi cistica del gene regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (*CFTR*) in DNA genomico isolato da campioni di sangue intero periferico umano. Le varianti comprendono quelle raccomandate nel 2004 dall'American College of Medical Genetics (ACMG)¹ e nel 2011 dall'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG).² Il test è destinato allo screening dei portatori in adulti in età riproduttiva, in test diagnostici di conferma di neonati e bambini e come test iniziale per contribuire alla diagnosi in individui con sospetta fibrosi cistica. I risultati di questo test sono previsti per essere interpretati da un esperto certificato in genetica molecolare e clinica o esperto equivalente e dovrebbero essere usati assieme ad altre informazioni di laboratorio e cliniche disponibili. Questo test non è indicato per l'uso nello screening neonatale, in test diagnostici prenatali, in test preimpianto o per fini diagnostici indipendenti. Il test è destinato all'uso con il MiSeqDx Instrument di Illumina.

Bibliografia per TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay

1. Watson MS, Cutting GR, Desnick RJ, et al. [Cystic fibrosis population carrier screening: 2004 revision of American College of Medical Genetics mutation panel](#). *Genet Med* 2004;6(5):387–391.
2. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. [ACOG Committee Opinion No. 486: Update on carrier screening for cystic fibrosis](#). *Obstet Gynecol.* 2011;117(4):1028–1031.

Uso previsto di TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay

Il TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay di Illumina è un sistema diagnostico *in vitro* per il sequenziamento mirato che sottopone a risequenziamento le regioni codificanti la proteina e i confini introne/esone del gene regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (*CFTR*) in DNA genomico isolato da campioni di sangue intero periferico umano raccolti in K2EDTA. Il test rileva le varianti a singolo nucleotide e indel piccole nella regione sequenziata e, inoltre, riporta due mutazioni introniche profonde e due delezioni ampie. Il test è destinato all'uso con il MiSeqDx Instrument di Illumina.

Questo test è previsto per contribuire alla diagnosi in individui con sospetta fibrosi cistica (FC). Questo saggio è più appropriato quando il paziente presenta una fibrosi cistica atipica o non classica o quando altri pannelli di mutazioni non sono riusciti a identificare le due mutazioni causative. I risultati del test devono essere interpretati da un esperto certificato in genetica molecolare e clinica o da un esperto equivalente e devono essere usati assieme ad altre informazioni disponibili, inclusi sintomi clinici, altri test diagnostici e anamnesi familiare. Questo test non è indicato per fini diagnostici indipendenti, test diagnostico prenatale, analisi preimpianto, screening del portatore, screening neonatale o screening della popolazione.

Uso previsto del TruSeq Custom Amplicon Kit Dx

Il TruSeq Custom Amplicon Kit Dx di Illumina è un set di reagenti e materiali di consumo utilizzato per preparare le librerie di campioni ottenute da DNA estratto da sangue intero periferico e tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE). I reagenti specifici per l'analisi forniti dall'utente sono richiesti per la preparazione delle librerie mirate a determinate regioni di interesse genomico. Le librerie di campioni generate sono destinate all'uso sugli analizzatori per le sequenze di DNA a elevata processività di Illumina.

illumina®

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

© 2023 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.
M-NA-00005 ITA v3.0