

Illumina Miseq séquençage d'ADN

PRINCIPE

Illumina Miseq utilise le séquençage par synthèse avec détection optique (SBS = "Sequencing by synthesis"). Cet appareil permet d'analyser les données ADN en seulement huit heures. Le système MiSeq regroupe la génération d'amplifiats, le séquençage et l'analyse des données en un seul instrument. Le processus permet d'identifier simultanément les bases d'ADN lorsqu'elles sont incorporées dans la chaîne d'acide nucléique. Chaque base émet un signal de fluorescence unique lorsqu'elle est ajoutée au brin en cours de synthèse, ceci est utilisé pour déterminer la séquence d'ADN.

APPLICATIONS

- Re-séquençage
- Séquençage *de novo* de petits génomes
- Séquençage de produits PCR

CARACTERISTIQUES

- Longueur des séquences attendues : jusqu'à 300 pb (2 x 300 pb en paired-ends)
- 15Gb / flowcell (2 x 300 pb en paired-end)
- Moins de 2% d'erreur sur les séquences alignées sur le génome de contrôle (PhiX)
- 1 flowcell de 1 lane
- Possibilité de multiplexage (jusqu'à 288 index en séquençage de produits PCR, 24 à 48 index pour le séquençage d'ADN génomique)
- 55 heures pour un run de séquençage en paired-end 2x300 pb

Fonctionnalités

-Automatisation autonome : après la configuration de l'analyse, qui comprend le chargement d'une cartouche de réactifs pré-remplie, du flacon de tampon et de la Flow Cell, aucun temps de manipulation supplémentaire n'est requis.

-Cartouche de réactifs pré-remplie : une cartouche de réactifs pré-remplie à usage unique et spécialement conçue pour fournir les réactifs pour la génération d'amplifiats et le séquençage, y compris

les réactifs de séquençage à lectures appariées et les réactifs d'indexage. Le suivi d'identification par radiofréquence (RFID) intégré permet un suivi fiable des consommables.

-Commandes de l'interface : l'interface du logiciel de commande MiSeq (MCS) comporte les fonctionnalités de configuration de l'instrument, de configuration et de surveillance des analyses et de réalisation des procédures de maintenance.

-Chargement pratique des Flow Cell : un mécanisme de pince positionne automatiquement les Flow Cell

lors de leur chargement dans l'instrument. Le suivi d'identification par radiofréquence (RFID) intégré permet un suivi fiable des consommables.

-Architecture de fluidique novatrice : le système fluidique MiSeq procure une efficacité inégalée de la durée du cycle chimique pendant le séquençage.

-Real-Time Analysis (RTA) : le logiciel d'analyse intégré analyse les données sur l'instrument en temps réel

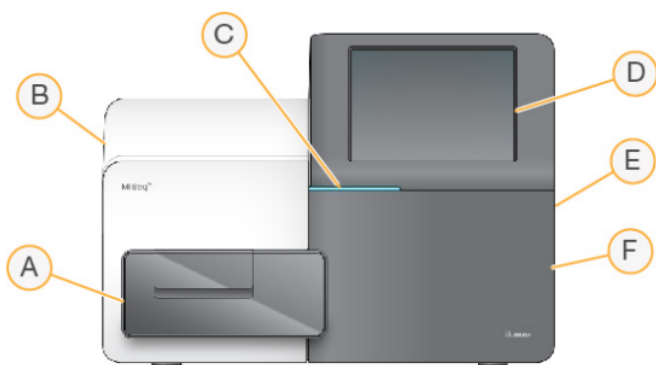
pendant l'analyse de séquençage, ce qui comprend l'analyse d'images et l'appel de bases, et permet d'économiser un temps d'analyse précieux en aval.

-Local Run Manager : le logiciel d'analyse secondaire intégré traite les données à partir de l'analyse RTA

pour procéder à l'alignement et fournit des renseignements sur chaque échantillon analysé.

Composants

Le système MiSeq comprend un écran tactile, une barre d'état, un bouton d'alimentation avec ports USB adjacents et trois compartiments.



A Compartiment de Flow Cell : contient la platine qui accueille la Flow Cell pendant l'analyse. Les moteurs de la platine extraient la platine du module optique joint pour le chargement de la Flow Cell et la réinsèrent dans le

module lorsque l'analyse commence.

B Compartiment optique joint : contient les composants optiques qui permettent l'imagerie de la Flow Cell.

C Barre d'état : indique que la Flow Cell est prête pour le séquençage (vert), en traitement (bleu) ou qu'elle nécessite une intervention (orange).

D Écran tactile : affiche l'interface du logiciel de commande pour la configuration du système et des analyses.

E Ports USB externes : facilitent le transfert de fichiers et de données sur l'ordinateur de l'instrument à partir de l'écran de surveillance tactile.

F Compartiment des réactifs : contient les réactifs à la bonne température, les solutions de lavage et le flacon à réactifs usagés. Un verrou magnétique sécurise la porte du compartiment des réactifs.

L'interface MiSeq vous guide tout au long du processus de configuration de l'analyse grâce à l'écran de surveillance tactile. Le chargement des composants de l'analyse nécessite d'accéder au compartiment des réactifs et au compartiment de Flow Cell.

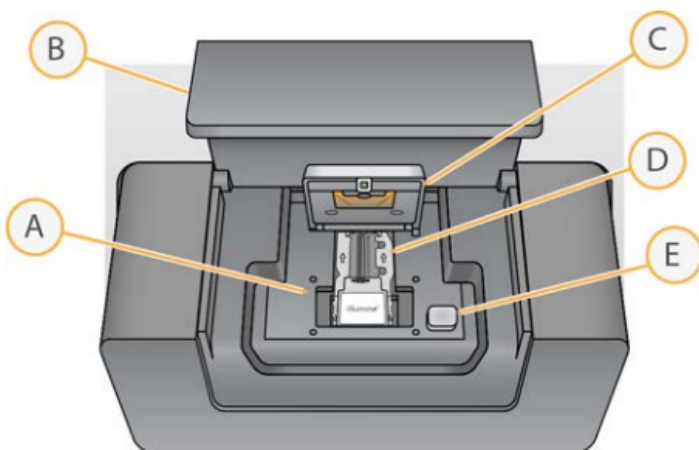
Compartiment de Flow Cell

Ce compartiment contient la platine de la Flow Cell, la station thermique et les connexions fluidiques vers la Flow Cell. La platine de la Flow Cell maintient la Flow Cell. La pince de Flow Cell fixe et positionne la Flow Cell.

Lorsque la pince de Flow Cell se ferme, deux broches à proximité de sa charnière positionnent automatiquement la Flow Cell.

La station thermique, située sous la platine de la Flow Cell, surveille les modifications de température de la

Flow Cell nécessaires à la génération d'amplifiats et au séquençage.



- A Platine de Flow Cell
- B Porte du compartiment de la Flow Cell
- C Pince de Flow Cell
- D Flow Cell
- E Bouton de libération de la pince de Flow Cell

Logiciels du système

La suite logicielle de l'instrument comprend des applications intégrées qui exécutent des analyses de

séquençage, des analyses sur instrument et des fonctions connexes.

-Logiciel de commande MiSeq (MCS) : commande le fonctionnement de l'instrument. L'interface du logiciel de commande MCS vous guidera tout au long des étapes de chargement de la Flow Cell et des

réactifs avant le lancement de l'analyse. Un aperçu des statistiques de qualité s'affiche pendant la progression de l'analyse.

-Lors de l'analyse, MCS gère la platine de la Flow Cell, distribue les réactifs, commande la température de

la Flow Cell et capture les images des amplifiats sur la Flow Cell. MCS exécute l'analyse selon les paramètres indiqués dans le logiciel Local Run Manager.

-Logiciel Real-Time Analysis (RTA) : exécute les analyses d'images et la définition des bases tout en affectant un score de qualité à chacune des bases, pour chacun des cycles. Les images sont temporairement stockées dans le dossier d'analyse pour leur traitement par RTA, puis automatiquement

supprimées à la fin de l'analyse RTA.

-Local Run Manager : une solution intégrée sur instrument, destinée à la création d'analyses, à la surveillance de l'état des analyses, à l'analyse des données de séquençage et à l'affichage des résultats.

Local Run Manager fait également le suivi des données sur les échantillons et sert au contrôle des autorisations des utilisateurs. Le logiciel s'exécute comme un service Windows sur l'ordinateur de l'instrument et s'affiche dans un navigateur Web.

Des logiciels facultatifs sont également utilisés hors de l'instrument, notamment le visualiseur d'analyse de





séquençage (Sequencing Analysis Viewer, ou SAV).

Icones d'état

Une icône d'état dans l'interface du logiciel de commande indique un changement de conditions pendant la configuration de l'analyse ou en cours d'analyse. Les chiffres affichés sur l'icône indiquent le nombre de points à signaler dans chaque cas.

Lorsque l'état de l'analyse change, l'icône clignote pour vous en avertir. Sélectionnez l'icône pour afficher une description de la situation. Sélectionnez **Acknowledge** (Accepter) pour effacer le message, puis **Close** (Fermer) pour fermer la boîte de dialogue.

Filtrez les types de message à afficher dans la fenêtre d'état en sélectionnant les icônes dans la marge supérieure de la fenêtre. En sélectionnant une icône, vous activez ou désactivez son affichage.

Icône d'état	Nom de l'état	Description
	État OK	Aucune modification. Le système est normal.
	Attention	Renseignements importants. Une action est recommandée.
	Avertissement	Les avertissements n'interrompent pas l'analyse. Ils peuvent cependant nécessiter une action avant de poursuivre.
	Erreur	En règle générale, les erreurs interrompent l'analyse et requièrent une intervention avant sa reprise.

indicateurs d'activité:

Une icône indique l'activité que l'instrument est en train de traiter

De gauche à droite, les indicateurs d'activité représentent les activités suivantes :

Figure 3 Indicateurs d'activité

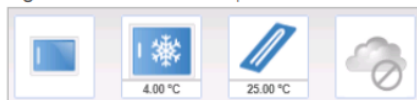


- Déplacement de la platine Y
- Déplacement de la platine Z
- Activation de la fonctionnalité électronique
- Utilisation de la caméra
- Pompage par le système fluidique

indicateurs de capteurs:

Les indicateurs de capteurs au bas de chaque écran de l'interface montrent l'état des composants de l'instrument

Figure 4 Indicateurs de capteurs



De gauche à droite, les indicateurs de capteurs représentent les composants suivants :

- Porte du compartiment de la Flow Cell, fermée ou ouverte
- Température du réfrigérant pour réactifs en °C
- Température de la Flow Cell en °C
- Statut de la connexion BaseSpaceMD (non connecté sur l'illustration)

Flow cell

La Flow Cell MiSeq est un substrat de verre à usage unique qui sert de support à la génération des amplifiats

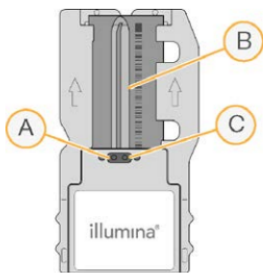
et à la réaction de séquençage.

Les réactifs pénètrent dans la Flow Cell par le port d'entrée, traversent la zone d'imagerie de la ligne unique,

puis sortent par le port de sortie. Les déchets qui sortent de la Flow Cell sont transférés dans le flacon à déchets.

Les bibliothèques sont chargées sur la cartouche de réactifs avant la configuration de l'analyse et sont automatiquement transférées à la Flow Cell après le lancement.

Figure 7 Flow Cell MiSeq



- A Port de sortie
- B Zone d'imagerie
- C Port d'entrée

FONCTIONNEMENT

Démarrage de l'instrument MiSeq

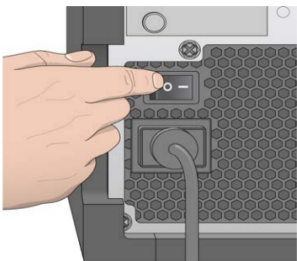
1) Mettez l'interrupteur d'alimentation situé à l'arrière de l'instrument en position | (Marche).

REMARQUE: Laissez l'instrument allumé en permanence pour des performances optimales.

Toutefois, si vous devez

éteindre l'instrument, consultez la section Arrêt de l'instrument, page 44. Attendez au moins 60 secondes avant de rallumer l'appareil.

Figure 9 Emplacement de l'interrupteur d'alimentation



2) Attendez que le système se charge, puis connectez-vous au système d'exploitation. Si nécessaire,

consultez l'administrateur de votre établissement pour obtenir le nom d'utilisateur et le mot de

passee.

Une fois le système d'exploitation chargé, le logiciel de commande MiSeq (MCS) est lancé et le système s'initialise automatiquement.

3) Pour Local Run Manager, si la gestion des utilisateurs est activée, connectez-vous à l'aide de votre nom

d'utilisateur et de votre mot de passe Local Run Manager, puis sélectionnez Next (Suivant).

BIBLIOGRAPHIE

Manuel d'utilisation complet de la machine : https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/system_documentation/translations/miseq-system-guide-for-windows-7-1000000154717-fra.pdf

Guide préparation de l'installation de l'appareil :

https://emea.support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/system_documentation/miseq/miseq-site-prep-guide-15027615-01.pdf

Manuel d'utilisation pour charger ses propres amorces (Primers) :

https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/system_documentation/miseq/miseq-system-custom-primers-guide-15041638-01.pdf

Article Scientifique sur les techniques de séquençage en comparant deux méthodes sur sphère (Ion torrent) et sur lame (Illumina) :

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877120321000136>

Revision #9

Created 28 April 2025 15:04:30 by Eden-Andrea Bougrer

Updated 5 May 2025 12:14:14 by Fiot Gwenael