



Ancona, 23 settembre 2022

Al Servizio Acquisti, Pagamenti ed Economato
SEDE

Oggetto: Motivazione di acquisto/Dichiarazione di infungibilità strumento MiSeq System

— La sottoscritta prof.ssa Lucia Aquilanti partecipa in qualità di ricercatore al progetto PNRR-CENTRO NAZIONALE AGRITECH.

Le attività progettuali da svolgere includono lo studio della biodiversità microbica di campioni di suolo prelevati nell'ambito di prove in campo per la valutazione dell'impatto di strategie volte alla salvaguardia della salute e qualità del suolo, in sistemi circolari per la valorizzazione di scarti agro-industriali.

Al fine di far fronte alle attività sopra indicate, si rende necessario procedere all'acquisizione di uno strumento con il quale sia possibile eseguire indagini metagenomiche delle popolazioni microbiche dei suoli trattati e di controllo utilizzando il gene codificante il 16S ribosomiale (rRNA), caratterizzato da regioni conservate e variabili che facilitano il sequenziamento e la classificazione filogenetica.

La soluzione individuata dalla scrivente per fare fronte alle sopra riportate esigenze di ricerca e analisi è rappresentata dallo strumento **MiSeq System** prodotto dalla Illumina Italy S.r.l..

La scrivente ha individuato nel suddetto strumento l'unico in grado di soddisfare il fabbisogno sopra descritto e ha ravvisato nello strumento sopra indicato le seguenti caratteristiche tecniche infungibili:

- il sistema MiSeq 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;
- Il sistema MiSeq sfrutta la chimica di sequenziamento mediante sintesi (SBS) di Illumina, una collaudata tecnologia di sequenziamento di prossima generazione (NGS) che ormai genera più del 90% dei dati di sequenziamento al mondo. La potenza della tecnologia



NGS e la forma compatta dello strumento fanno del sistema MiSeq la piattaforma ideale per un'analisi genetica rapida ed economicamente vantaggiosa.

- Il sistema MiSeq è dotato di un software di controllo dello strumento lineare e comprensibile. L'operatore può usufruire dell'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 sistemi MiSeq 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.
- Il sistema MiSeq - grazie alla possibilità di preparare le librerie in modo rapido - assicura tempi di elaborazione semplici e accelerati e restituisce i risultati in qualche ora, invece che dopo giorni, come gli altri sequenziatori disponibili in commercio. Con i reagenti per la preparazione delle librerie Illumina DNA Prep, il sistema MiSeq permette di approntare le librerie di sequenziamento in appena tre ore, per poi passare a operazioni automatizzate come l'amplificazione clonale, il sequenziamento e l'identificazione delle basi qualitativamente valutata, che, a loro volta, non richiedono più di 5,5 ore. L'allineamento delle sequenze può essere completato entro tre ore direttamente sul computer integrato nello strumento con il software MiSeq Local Run Manager oppure attraverso BaseSpace Sequence Hub.
- Infine, 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

SEDE

Via Breccie Bianche 10
Monte Dago
60131 Ancona / Italia
www.univpm.it

SEGRETERIA AMMINISTRATIVA

T. 071 2204935
F. 071 2204685
dip.d3a@univpm.it
direttore.d3a@pec.univpm.it

NUCLEO DIDATTICO

T. 071 2204935
F. 071 2204685
didattica.agraria@univpm.it



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.

In sintesi, lo strumento **MiSeq System** è un sistema altamente automatizzato, che si caratterizza per:

- ingombro ridotto, che ne permette la collocazione in qualsiasi ambiente di laboratorio;
- flusso di lavoro semplice e intuitivo
- eccezionale qualità dei dati prodotti, dimostrata attraverso comparazione scientifica e peer review
- velocità di sequenziamento
- possibilità di regolare la lettura e le opzioni della cella a flusso per un'ottima flessibilità in una vasta gamma di applicazioni.

Date le premesse, lo strumento **MiSeq System** possiede le caratteristiche ideali per l'analisi di comunità microbiche complesse nei suoli analizzati nell'ambito del progetto PNRR- CENTRO NAZIONALE AGRITECH.

In fede

Prof. ssa Lucia Aquilanti

Lucia Aquilanti PhD Full Professor
Agricultural microbiology
Department of Agricultural, Environmental, Food Science Università Politecnica delle Marche
via Brezze Bianche 60131 Ancona phone: +39
fax: +39 071 2204959
email: l.aquilanti@univpm.it

SEDE

Via Brezze Bianche 10
Monte Dago
60131 Ancona / Italia
www.univpm.it

SEGRETERIA AMMINISTRATIVA

T. 071 2204935
F. 071 2204685
dip.d3a@univpm.it
direttore.d3a@pec.univpm.it

NUCLEO DIDATTICO

T. 071 2204935
F. 071 2204685
didattica.agraria@univpm.it