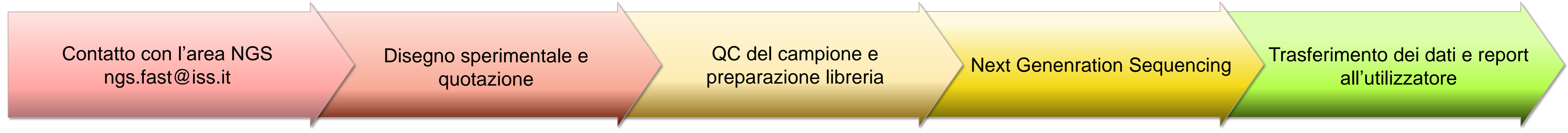


### MISSIONE

L'area NGS ha come obiettivo di offrire tecnologie di sequenziamento all'avanguardia e dati di alta qualità a collaboratori del ISS e di istituzioni esterne, sia accademiche che private. Il personale esperto dell'area NGS accompagna il ricercatore in tutte le fasi: dalla progettazione sperimentale al dato finale per applicazioni quali il sequenziamento microbico (SWGS, sia re-sequencing che *de novo*, 16S, RNAseq), sequenziamento mirato del DNA e dell'RNA basato sulla tecnologia Ampliseq (transcrittoma umano e murino, pannello Sars-CoV-2, altri pannelli specifici), esoma, RNA tot, microRNA, LncRNA etc. Siamo inoltre disponibili a collaborare con i ricercatori, sia interni all'ISS che esterni, per implementare nuove applicazioni e supportarli nella preparazione di domande di finanziamento di progetti che implicino Next Generation Sequencing e single cell OMICS.

### FLUSSO DI LAVORO



### STRUMENTI

**Ion GeneStudio S5 Prime**

**Ion GeneStudio S5**

**Ion Chef**

**COMING SOON**

**ILLUMINA NextSeq 2000**

**COMING SOON**

**10X Genomics ChromiumX**

**Agilent 4200 TapeStation**

510 Chip  
3 M reads  
Fino a 400 bp

520 Chip  
6 M reads  
Fino a 600 bp

530 Chip  
20 M reads  
Fino a 600 bp

540 Chip  
80 M reads  
Fino a 200 bp

550 Chip  
130 M reads  
Fino a 200 bp

**Flow cell P1**  
Fino a 60 Gb  
2 x 300

**Flow cell P2**  
Fino a 180Gb  
2 x 300

**Flow cell P3**  
Fino a 360 Gb  
2x150

**Chip standard**  
Fino a 8 campioni  
80 000 cellule

**Chip HT**  
Fino a 16 campioni  
160 000 cellule

### Applicazione: Metagenomica 16S

**Ion 16S Metagenomics Kit**

Solo 16S (al livello Primer Sets)

- Set V2-4-8
- Set V3/6,7-9

**Analisi su Ion Reporter**

**Ion Ampliseq Microbiome Health Research Kit**

Clinical research sample → 16S primers x8 → Species specific: x73 → 16S + 73 microrganismi risolti a livello di specie → List of species

### Applicazione: RNA-seq

**Trascrittoma**

tot. RNA

Small RNA enriched, mRNA polyA enriched, ncRNA from polyA fraction, rRNA depleted

Fragmentation

RNA fragments (40-150 nt)

Strand specificity

P1 adaptor, 5' adaptor, Key Sequence, A Adaptor, 3' adaptor

ion torrent

**AmpliSeq**

1. Esperimento FFPE

2. Costruzione della libreria

RNA isolation and quantification → Retrotrascrizione (10 ng RNA) → cDNA → Amplificazione selettiva > 20,000 fullSeq

PCR multiplex

3. sequenziamento

4. Analisi bioinformatica (TAC) Software

### PROSPETTIVE: single cell multi OMICS

Nell'Area NGS dell'ISS saranno presto disponibili tutte le applicazioni della tecnologia single cell 10X Genomics che permettono di studiare l'espressione genica, il repertoire di cellule B e T, il profilo epigenomico e l'analisi multiomica.

Grazie alla collaborazione dell' Area NGS e di quella di microscopia dell'Istituto Superiore di Sanità, stiamo implementando la tecnologia Visum. Questa tecnologia combina l'istologia con la profilazione dell'espressione genica dell'intero trascrittoma risolta spazialmente per localizzare e quantificare l'espressione genica nel contesto tissutale.

