

Ion Torrent

Ion Torrent è un sistema di sequenziamento simile a che utilizza il cambiamento di pH dovuto al rilascio di protoni durante l'incorporazione di nucleotidi.

Preparazione library

La preparazione della library nel sistema Ion Torrent consiste nella frammentazione del materiale di partenza, a cui vengono aggiunti appositi adattatori.

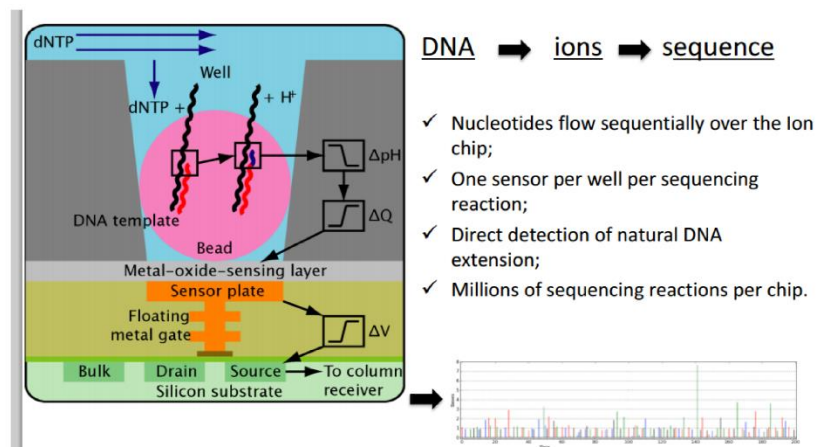
Amplificazione

L'amplificazione avviene tramite PCR in emulsione, come nel sistema Roche 454.

Sequenziamento

Il sequenziamento avviene su chip semiconduttore in grado di alloggiare milioni di sferette contenenti ciascuna un clone amplificato di un frammento di DNA.

Il sequenziamento avviene su dei pozzetti a semiconduttore, all'interno del quale si dispone una delle sferette della libreria.



Si aggiungono primer, nucleotidi e polimerasi.

Sul fondo del pozzetto è presente un sensore che misura la variazione del pH al rilascio di un protone, che avviene normalmente all'incorporazione di un nucleotide nella sequenza grazie all'azione della polimerasi (legame fosfodiesterico).

La variazione di pH che si ha al rilascio di un protone viene rilevata dal sensore, che la trasforma in un segnale elettrico. La variazione del pH è proporzionale rispetto al numero di nucleotidi legati.

I nucleotidi vengono interrogati uno alla volta, perché essendo il segnale chimico uguale per ogni nucleotide incorporato non si potrebbe differenziare il nucleotide legato nel caso fossero interrogati tutti assieme come in Illumina.