

Pan-Coronavirus Panel

Vigilancia genómica de coronavirus conocidos y nuevos en reservorios de animales

- Úselo con la preparación de librería Illumina RNA Prep with Enrichment y los sistemas NGS de Illumina y el software de análisis
- Habilite la secuenciación de cepas flexible con enriquecimiento de objetivos de captura híbrida
- Genere una cobertura genómica completa de coronavirus conocidos y nuevos

illumina®

Introducción

La pandemia de la COVID-19 ha arrasado en todo el mundo desde 2019. ¹ Esta aparición representa el cuarto y más mortal brote de coronavirus en los últimos 20 años. Los brotes anteriores incluyen dos epidemias separadas de síndrome respiratorio agudo grave (SARS) en 2002 y 2003 y síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) en 2012. Se espera que este patrón de coronavirus que surge de fuentes zoonóticas y crea una crisis de salud pública se repita en el futuro.^{2,3} Resalta la necesidad de vigilancia genómica para identificar y supervisar coronavirus en huéspedes animales. Esto ayudará a los científicos y a los funcionarios de salud pública a comprender mejor la evolución y patogenicidad del coronavirus con el objetivo de prevenir futuras pandemias.

Para ayudar a satisfacer esta necesidad, Illumina ofrece Pan-Coronavirus Panel. Cuando se combina con Illumina RNA Prep with Enrichment, Pan-Coronavirus Panel permite la detección y secuenciación de 225 coronavirus humanos y animales conocidos y de nuevos coronavirus estrechamente relacionados con el potencial de convertirse en infecciosos para los seres humanos.

Contenido de perfil flexible y selectivo

El contenido de Pan-Coronavirus Panel incluye oligonucleótidos de captura híbrida agrupados en los genomas de referencia de múltiples géneros de coronavirus (tabla 1) y varios huéspedes animales conocidos (tabla 2). El enfoque de enriquecimiento selectivo es susceptible de capturar mutaciones y variantes en todo el genoma vírico, lo que permite

la secuenciación de cepas de coronavirus conocidas y nuevas, así como la detección de la recombinación entre cepas.

Tabla 1: Géneros de coronavirus incluidos en el perfil

Genoma vírico	N.º de genomas
Alfacoronavirus	69
Bafinivirus	1
Betacoronavirus	59
Deltacoronavirus	13
Gammacoronavirus	61
Coronaviridae sin clasificar	22
Total	225

Tabla 2: Genomas del coronavirus asociados al huésped conocidos incluidos en el perfil

Especie	N.º de genomas
Murciélago	64
Rata	32
Visón, pangolín, ratón, cerdo, serpiente	28
Pájaro	25
Vaca, camello, cabra, caballo	11
Delfín, ballena, pez	9
Humana	7
Perro	7
Gato, hurón	6
Erizo	2

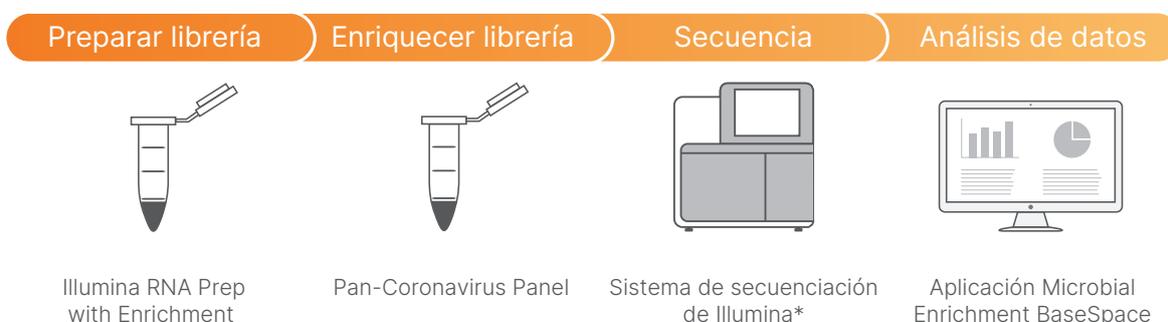


Figura 1: Flujo de trabajo de llamada de variantes: Pan-Coronavirus Panel forma parte de un flujo de trabajo integrado que incluye la preparación de librerías, la secuenciación y el análisis de datos simplificado en BaseSpace Sequence Hub.

* La secuenciación se puede realizar en los sistemas MiniSeq, MiSeq, NextSeq 550, NextSeq 1000 o NextSeq 2000 de Illumina.

Parte de un flujo de trabajo integrado

Pan-Coronavirus Panel forma parte de una solución de secuenciación vírica integrada (figura 1). Las librerías se preparan con Illumina RNA Prep with Enrichment e Illumina DNA/RNA UD Indexes. Tras el enriquecimiento con Pan-Coronavirus Panel, las librerías se ejecutan en un sistema de secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) de Illumina. Con una longitud de lectura recomendada de 2 × 150 pb y una profundidad de 0,5 a 1 millón de lecturas, el perfil es ideal para su uso con sistemas de sobremesa, como los sistemas MiniSeq™, MiSeq™, NextSeq™ 550, NextSeq 1000 y NextSeq 2000. El análisis mediante pulsador se puede realizar en la aplicación DRAGEN™ Microbial Enrichment, disponible gratuitamente en BaseSpace™ Sequence Hub.

Mayor cobertura del genoma con el enriquecimiento de Pan-Coronavirus Panel

Para demostrar el rendimiento excepcional de Pan-Coronavirus Panel, se añadieron cinco muestras víricas sintéticas (tabla 3) en ARN de referencia humana universal (Agilent Technologies, n.º de catálogo 74000). Las librerías se prepararon por triplicado mediante Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (Illumina, n.º de catálogo 20040537) e IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (Illumina, n.º de catálogo 20027214).* El enriquecimiento se realizó con Pan-Coronavirus Panel agrupando réplicas en reacciones de hibridación de 3 unidades de plexado. Las librerías de control enriquecidas y no enriquecidas se secuenciaron en el sistema NextSeq 550 con una longitud de lectura de 2 × 150 pb.

El enriquecimiento con Pan-Coronavirus Panel aumentó el número de lecturas de Coronaviridae >100 veces en las librerías analizadas, en comparación con los controles no enriquecidos (figura 2). El enriquecimiento con el perfil también dio como resultado una cobertura excepcional del genoma vírico (figura 3A). Aunque una longitud de lectura de 2 × 74 pb proporciona suficiente cobertura para algunos genomas víricos, una longitud de lectura de 2 × 150 pb proporciona una cobertura superior para genomas más complejos. Para lograr los mejores resultados con la mayoría de los genomas

víricos, Illumina recomienda una longitud de lectura de 2 × 150 pb más larga (figura 3B). Esta combinación de mayor longitud de lectura y mayor profundidad de secuenciación mejora la cobertura de algunas cepas de coronavirus.

Tabla 3: Muestras de control del coronavirus para validación

Muestra	Géneros
SARS-CoV-2 (Twist Bioscience, n.º de catálogo 102019)	Betacoronavirus (2b)
SARS-CoV-2 (BA.2) (Twist Bioscience, n.º de catálogo 105346)	Betacoronavirus (2b)
HCoV-OC43 (Twist Bioscience, n.º de catálogo 103013)	Betacoronavirus (2a)
HCoV-229E (Twist Bioscience, n.º de catálogo 103011)	Alfacoronavirus (1b)
HCoV-NL63 (Twist Bioscience, n.º de catálogo 103012)	Alfacoronavirus (1b)

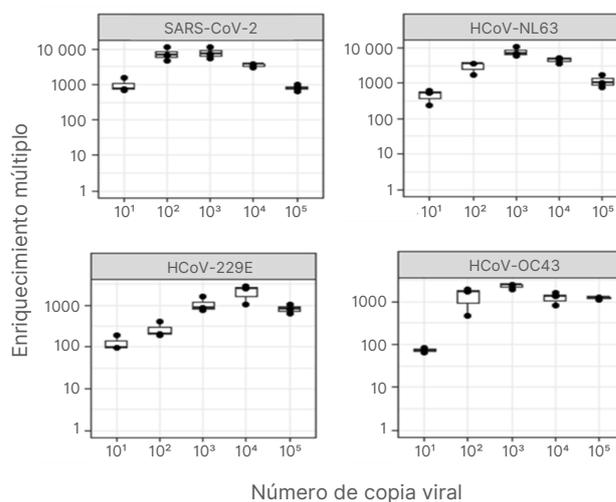


Figura 2: Enriquecimiento de las lecturas de Coronaviridae: Pan-Coronavirus Panel enriqueció con éxito las lecturas de Coronaviridae en todas las librerías analizadas en una serie de entradas de número de copias virales. El enriquecimiento múltiplo se calculó como la proporción de lecturas de Coronaviridae en librerías enriquecidas y no enriquecidas. Los datos se redujeron a grupos de 1 millón y se recortaron a 74 pb. El enriquecimiento múltiplo se reduce en los valores víricos más altos porque las librerías no enriquecidas tienen un mejor rendimiento con valores víricos elevados; sin embargo, el rendimiento enriquecido sigue siendo fuerte.

* El n.º de catálogo 20027214 ha quedado obsoleto, se ha sustituido por Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples), n.º de catálogo 20091656.

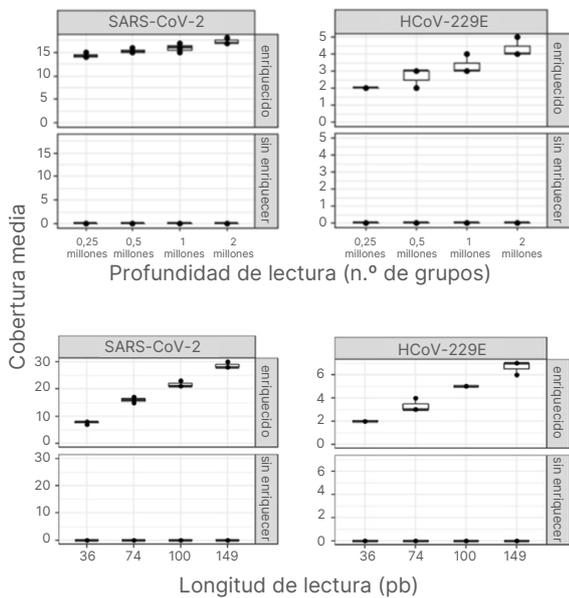


Figura 3: Cobertura mejorada del genoma del coronavirus: cobertura media de los controles de ARN vírico sintético (SARS-CoV-2 y HCoV-229E) en 10 ng de UHR tras el enriquecimiento con Pan-Coronavirus Panel. El aumento de la profundidad de lectura (superior) y la longitud de lectura (inferior) mejoró la cobertura del genoma. Las longitudes de lectura se redujeron a 36, 74, 100 y 149 pb.

Secuenciación de cepas que no están en el perfil

El perfil se diseñó antes de la aparición de la variante ómicron BA.2 de SARS-CoV-2, pero el enriquecimiento y la secuenciación dieron como resultado una cobertura genómica completa de la cepa BA.2 de ómicron (figura 4). Esto demuestra que Pan-Coronavirus Panel se puede utilizar para secuenciar cepas nuevas de coronavirus no incluidas en el perfil.

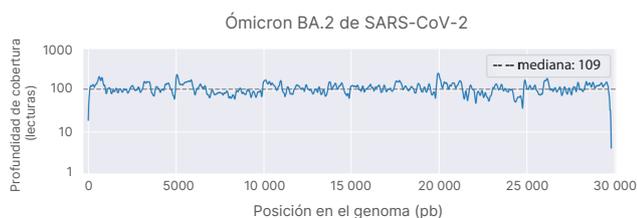


Figura 4: Cobertura completa del genoma de la cepa BA.2 de ómicron: el enriquecimiento con Pan-Coronavirus Panel dio como resultado una cobertura cercana al 100 % de la variante ómicron BA.2 de SARS-CoV-2.

Resumen

La pandemia de la COVID-19 y los brotes de coronavirus anteriores destacan la necesidad de vigilancia genómica para identificar y supervisar los coronavirus en los huéspedes animales. Estos esfuerzos pueden ayudar a prevenir futuras pandemias. Pan-Coronavirus Panel forma parte de una solución integrada que incluye Illumina RNA Prep with Enrichment, un sistema NGS de sobremesa y un análisis mediante pulsador en BaseSpace Sequence Hub. Permite la secuenciación de cepas de coronavirus conocidas y nuevas con una cobertura del genoma completa, incluso con un número de copias víricas bajo y un fondo de huésped elevado, a profundidades de secuenciación relativamente bajas. La flexibilidad integrada en el perfil significa que las cepas nuevas no incluidas en el diseño inicial también se pueden secuenciar con una cobertura significativa. Pan-Coronavirus Panel es una herramienta esencial en el arsenal para combatir futuros brotes virales.

Información adicional

[Pan-Coronavirus Panel](#)

[Illumina RNA Prep with Enrichment](#)

[Lista de comprobación del protocolo Illumina RNA Prep with Enrichment](#)

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
Pan-Coronavirus Panel (96 reactions)	20088155
Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (16 samples)	20040536
Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (96 samples)	20040537
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) 20091654	20027213
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) 20091656	20027214
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) 20091658	20042666
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 indexes, 96 samples) 20091660	20042667

Bibliografía

1. Organización Mundial de la Salud. [Declaración del director general de la OMS relativa a las recomendaciones del Comité de Emergencia del RSI sobre nuevos coronavirus \(2019-nCoV\)](#). Fecha de publicación: 30 de enero de 2020. Fecha de acceso: viernes, 9 de septiembre de 2022.
2. Morens DM, Taubenberger JK, Fauci AS. [A Centenary Tale of Two Pandemics: The 1918 Influenza Pandemic and COVID-19, Part II](#). *Am J Public Health*. 2021;111(7):1267-1272. doi: 10.2105/AJPH.2021.306326.
3. Rubin R. [The Search for a Single Vaccine Against Coronaviruses Yet to Come](#). *JAMA*. 2021;326(2):118-120. doi: 10.1001/jama.2021.9477.



1.800.809.4566 (llamada gratuita, EE. UU.) | Tel.: +1 858 202 4566
 techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
 M-GL-01239 ESP v2.0