

Pan-Coronavirus Panel

Sorveglianza genomica
dei coronavirus noti e nuovi
nei serbatoi di animali

- Utilizzo con il kit per la preparazione delle librerie Illumina RNA Prep with Enrichment e con i sistemi NGS e il software di analisi Illumina
- Possibilità di sequenziamento flessibile dei ceppi con l'arricchimento dei target mediante ibridazione-cattura
- Generazione di una copertura genomica completa di coronavirus noti e nuovi

illumina[®]

Introduzione

La pandemia di COVID-19 si è diffusa in tutto il mondo a partire dal 2019.¹ Questa insorgenza rappresenta la quarta epidemia più letale di coronavirus degli ultimi 20 anni. Precedenti epidemie includono due epidemie separate di sindrome respiratoria acuta grave (SARS, Severe Acute Respiratory Syndrome) nel 2002 e 2003 e sindrome respiratoria mediorientale (MERS, Middle East Respiratory Syndrome) nel 2012. Si prevede che questo schema di coronavirus che si diffondono da fonti zoonotiche creando crisi sanitarie pubbliche si ripeterà in futuro.^{2,3} Evidenzia la necessità di sorveglianza genomica per identificare e monitorare i coronavirus negli ospiti animali. In questo modo, gli scienziati e i funzionari della sanità pubblica potranno comprendere meglio l'evoluzione e la patogenicità del coronavirus con l'obiettivo di prevenire future pandemie.

Per contribuire a soddisfare questa esigenza, Illumina offre il Pan-Coronavirus Panel. Quando combinato con Illumina RNA Prep with Enrichment, il Pan-Coronavirus Panel consente il rilevamento e il sequenziamento di 225 coronavirus umani e animali noti e di nuovi coronavirus strettamente correlati con il potenziale di diventare infettivi per gli esseri umani.

Contenuto del pannello mirato e flessibile

Il contenuto del Pan-Coronavirus Panel include oligonucleotidi mediante ibridazione-cattura affiancati sui genomi di riferimento di più generi di coronavirus (Tabella 1) e vari ospiti animali noti (Tabella 2). L'approccio all'arricchimento mirato è suscettibile di catturare mutazioni e varianti nell'intero genoma virale,

consentendo il sequenziamento di ceppi di coronavirus noti e nuovi e il rilevamento della ricombinazione tra i ceppi.

Tabella 1: generi di coronavirus inclusi nel pannello

Genoma virale	N. di genomi
Alfacoronavirus	69
Bafinivirus	1
Betacoronavirus	59
Deltacoronavirus	13
Gammacoronavirus	61
Coronaviridae non classificati	22
Totale	225

Tabella 2: genomi di coronavirus associati all'ospite noti inclusi nel pannello

Specie	N. di genomi
Pipistrello	64
Ratto	32
Visone, pangolino, topo, maiale, serpente	28
Uccello	25
Mucca, cammello, capra, cavallo	11
Delfino, balena, pesce	9
Uomo	7
Cane	7
Gatto, furetto	6
Riccio	2

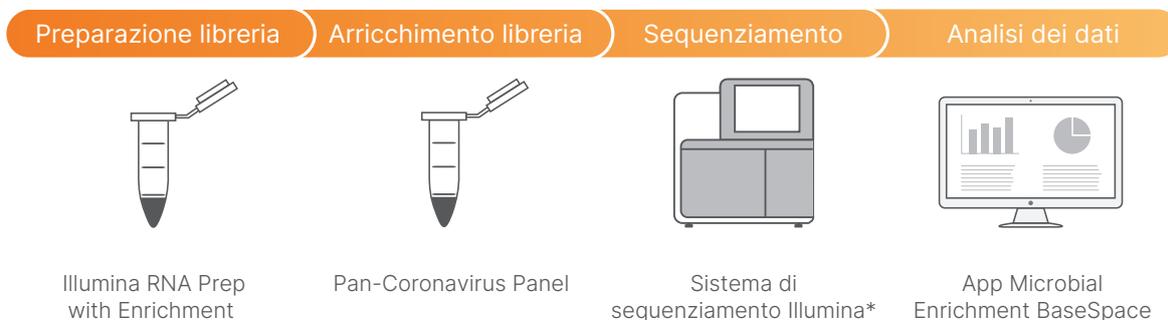


Figura 1: flusso di lavoro per l'identificazione di varianti. Il Pan-Coronavirus Panel fa parte di un flusso di lavoro integrato che include la preparazione delle librerie, il sequenziamento e l'analisi semplificata dei dati in BaseSpace Sequence Hub.

* Il sequenziamento può essere eseguito su Illumina MiniSeq System, MiSeq System, NextSeq 550 System, NextSeq 1000 System o NextSeq 2000 System.

Parte di un flusso di lavoro integrato

Il Pan-Coronavirus Panel fa parte di una soluzione di sequenziamento virale integrata (Figura 1). Le librerie vengono preparate utilizzando Illumina RNA Prep with Enrichment e gli Illumina DNA/RNA UD Index. Dopo l'arricchimento con il Pan-Coronavirus Panel, le librerie vengono analizzate su un sistema di sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-generation Sequencing) Illumina. Con una lunghezza di lettura raccomandata di 2×150 bp e una profondità di lettura di 0,5-1 milione, il pannello è la soluzione ideale per l'uso con sistemi da banco come MiniSeq™ System, MiSeq™ System, NextSeq™ 550 System, NextSeq 1000 System e NextSeq 2000 System. L'analisi mediante pulsante può essere eseguita sull'app DRAGEN™ Microbial Enrichment, disponibile gratuitamente in BaseSpace™ Sequence Hub.

Maggiore copertura del genoma con l'arricchimento del Pan-Coronavirus Panel

Per dimostrare le eccezionali prestazioni del Pan-Coronavirus Panel, cinque campioni virali sintetici (Tabella 3) sono stati aggiunti a RNA di riferimento umano universale (Agilent Technologies, n. di catalogo 74000). Le librerie sono state preparate in triplicato utilizzando Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (Illumina, n. di catalogo 20040537) e IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (Illumina, n. di catalogo 20027214).* L'arricchimento è stato eseguito con il Pan-Coronavirus Panel raggruppando in pool i replicati in reazioni di ibridazione 3-plex. Le librerie di controllo arricchite e non arricchite sono state sequenziate sul NextSeq 550 System con una lunghezza di lettura di 2×150 bp.

L'arricchimento con il Pan-Coronavirus Panel ha aumentato il numero di letture di Coronaviridae di oltre 100 volte tra le librerie testate rispetto ai controlli non arricchiti (Figura 2). L'arricchimento con il pannello ha inoltre prodotto un'eccezionale copertura del genoma virale (Figura 3A). Anche se una lunghezza di lettura di 2×74 bp fornisce una copertura sufficiente per alcuni genomi virali, una lunghezza di lettura di 2×150 bp offre una copertura superiore per genomi più complessi. Per ottenere i migliori risultati con la maggior parte dei genomi virali, Illumina raccomanda una lunghezza di lettura di 2×150 bp più lunga (Figura 3B).

* Il n. di catalogo 20027214 è attualmente obsoleto, sostituito da Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 indexes, 96 samples), n. di catalogo 20091656.

Questa combinazione di maggiore lunghezza di lettura e maggiore profondità di sequenziamento migliora la copertura per alcuni ceppi di coronavirus.

Tabella 3: campioni di controllo per il coronavirus per convalida

Campione	Generi
SARS-Cov-2 (Twist Bioscience, n. di catalogo 102019)	Betacoronavirus (2b)
SARS-CoV-2 (BA.2) (Twist Bioscience, n. di catalogo 105346)	Betacoronavirus (2b)
HCoV-OC43 (Twist Bioscience, n. di catalogo 103013)	Betacoronavirus (2a)
HCoV-229E (Twist Bioscience, n. di catalogo 103011)	Alfacoronavirus (1b)
HCoV-NL63 (Twist Bioscience, n. di catalogo 103012)	Alfacoronavirus (1b)

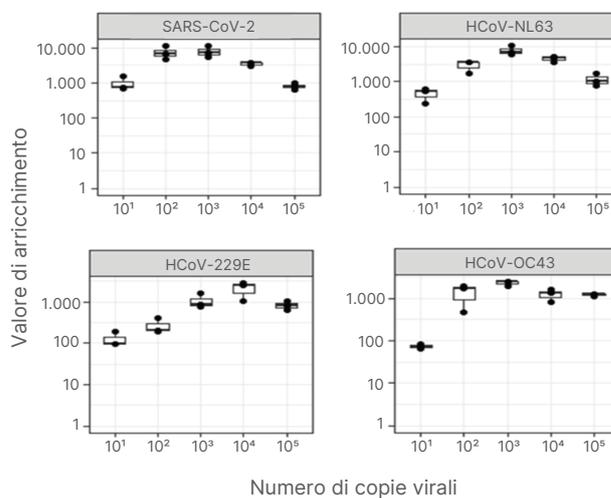


Figura 2: arricchimento delle letture di Coronaviridae. Il Pan-Coronavirus Panel ha arricchito correttamente le letture di Coronaviridae in tutte le librerie testate su un intervallo di input del numero di copie virali. Il valore di arricchimento è stato calcolato come il rapporto delle letture dei Coronaviridae in librerie arricchite/non arricchite. I dati sono stati sottocampionati a 1 milione di cluster e sottoposti a trimming a 74 bp. Il valore di arricchimento è ridotto in titoli virali più elevati perché le librerie non arricchite funzionano meglio con titoli virali elevati; tuttavia, le prestazioni arricchite rimangono forti.

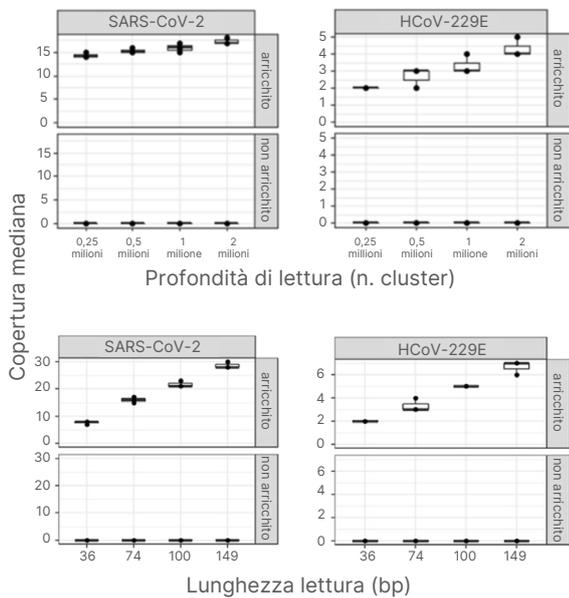


Figura 3: migliore copertura del genoma del coronavirus. Copertura mediana dei controlli dell'RNA virale sintetico (SARS-CoV-2 e HCoV-229E) in 10 ng di UHR dopo l'arricchimento con il Pan-Coronavirus Panel. L'aumento della profondità di lettura (in alto) e della lunghezza di lettura (in basso) ha consentito una migliore copertura del genoma. Le lunghezze di lettura sono state sottoposte a trimming a 36, 74, 100 e 149 bp.

Sequenziamento di ceppi non nel pannello

Il pannello è stato progettato prima della comparsa della variante Omicron BA.2 di SARS-CoV-2; tuttavia, l'arricchimento e il sequenziamento hanno prodotto una copertura genomica completa del ceppo Omicron BA.2 (Figura 4). Questo dimostra che il Pan-Coronavirus Panel può essere utilizzato per sequenziare nuovi ceppi di coronavirus non inclusi nel pannello.

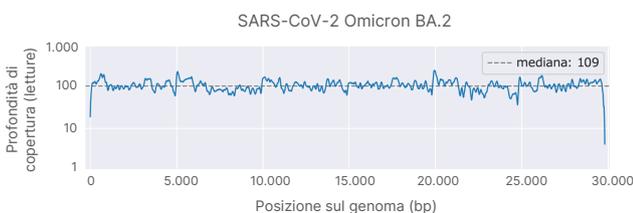


Figura 4: copertura genomica completa del ceppo Omicron BA.2. L'arricchimento con il Pan-Coronavirus Panel ha prodotto una copertura pari a quasi il 100% della variante Omicron BA.2 SARS-CoV-2.

Riepilogo

La pandemia di COVID-19 e le epidemie precedenti di coronavirus evidenziano la necessità di sorveglianza genomica per identificare e monitorare i coronavirus negli ospiti animali. Tali sforzi possono aiutare a prevenire future pandemie. Il Pan-Coronavirus Panel fa parte di una soluzione integrata che include Illumina RNA Prep with Enrichment, un sistema NGS da banco e l'analisi mediante pulsante in BaseSpace Sequence Hub. Consente il sequenziamento di ceppi di coronavirus noti e nuovi con copertura genomica completa, anche con un numero basso di copie virali e un elevato background dell'host, a profondità di sequenziamento relativamente basse. La flessibilità integrata nel pannello significa che anche i nuovi ceppi non inclusi nel design iniziale possono essere sequenziati con una copertura significativa. Il Pan-Coronavirus Panel è uno strumento essenziale per combattere future epidemie virali.

Maggiori informazioni

[Pan-Coronavirus Panel](#)

[Illumina RNA Prep with Enrichment](#)

[Lista di controllo del protocollo Illumina RNA Prep with Enrichment](#)

Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
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

Bibliografia

1. World Health Organization. [WHO Director-General's statement on IHR Emergency Committee on Novel Coronavirus \(2019-nCoV\)](#). Pubblicato il 30 gennaio 2020. Consultato il 9 settembre 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.



Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitare la pagina web www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-01239 ITA v2.0