

# Illumina Microbial Amplicon Prep

Soluzione versatile per la preparazione delle librerie per la sorveglianza sanitaria pubblica e la ricerca microbiologica

- Supporta i primer progettati dall'utente per sequenziare i patogeni di interesse per questioni di sanità pubblica
- Consente una copertura dell'intero genoma di alta qualità su più specie microbiche
- Ospita input di DNA e RNA da un'ampia gamma di fonti e tipi di campioni

**illumina**<sup>®</sup>

## Introduzione

La pandemia di COVID-19 ha sottolineato l'importanza di disporre di efficaci sistemi di sorveglianza virale per identificare, monitorare e controllare le epidemie. La sorveglianza genomica della popolazione su larga scala focalizzata sulle patologie infettive endemiche e di nuova insorgenza, comprese quelle causate dai virus SARS-CoV-2,<sup>1-3</sup> Zika,<sup>4,5</sup> Ebola,<sup>6</sup> e M pox<sup>7</sup> (precedentemente Monkeypox), è ora possibile grazie alla tecnologia di sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing).

Il kit Illumina Microbial Amplicon Prep è un saggio basato sul sequenziamento a bassa e media produttività che amplia la capacità di scoperta delle applicazioni di microbiologia e della ricerca sulle malattie infettive. Con questo kit, che sfrutta il comprovato flusso di lavoro del saggio Illumina COVIDSeq™, i ricercatori possono utilizzare primer progettati in laboratorio o disponibili in commercio per il sequenziamento mirato di virus e regioni selezionate da diverse specie microbiche più grandi, inclusi batteri o parassiti. Questa versatile soluzione di preparazione delle librerie supporta un'ampia gamma di applicazioni di ricerca nell'ambito della salute pubblica, tra cui il monitoraggio dei patogeni nel tempo e in tutte le aree geografiche, il rilevamento delle varianti, la classificazione dei ceppi patogeni, l'identificazione dei marcatori di resistenza microbica e altro ancora.

## Eccellenti prestazioni su tutte le specie microbiche

Illumina Microbial Amplicon Prep può essere combinato con primer ben progettati per fornire una copertura delle sequenze sui genomi virali, inclusi i virus di RNA e DNA (Figura 1). Questo kit consente il sequenziamento mirato di genomi interi o di regioni selezionate di virus, a seconda dell'applicazione. Per le specie microbiche con genomi più grandi, possono essere utilizzati primer per regioni selezionate.

Illumina Microbial Amplicon Prep può essere utilizzato con RNA o DNA estratto da una varietà di fonti, come colture microbiche, tamponi nasofaringei, tamponi cutanei, tamponi nasali, campioni di acque reflue e altri. Per una corretta preparazione delle librerie, si raccomanda di utilizzare DNA o RNA di input di alta qualità, con ulteriori fasi di pulizia e purificazione dopo l'estrazione.

## Flusso di lavoro ottimizzato

Illumina Microbial Amplicon Prep è una soluzione di preparazione delle librerie basata su PCR con multiplex elevato da utilizzare su target microbici. Questo kit si basa sull'efficace flusso di lavoro del saggio Illumina COVIDSeq, che copre l'isolamento del materiale genetico attraverso il sequenziamento e l'analisi dei dati per il rilevamento e la caratterizzazione delle specie microbiche (Figura 2).

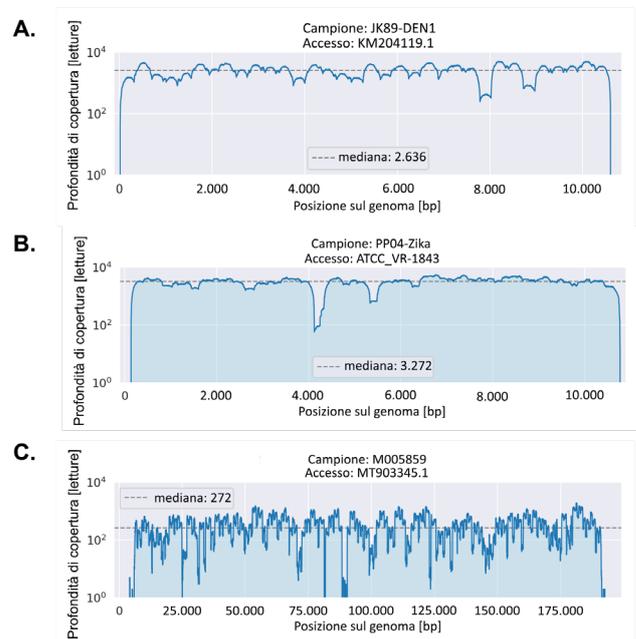


Figura 1: copertura dell'intero genoma per i virus di RNA e DNA. Illumina Microbial Amplicon Prep fornisce una copertura del genoma superiore al 95% per i virus dell'RNA (A) Dengue e (B) Zika. (C) Il grafico di copertura per il virus M pox dimostra la compatibilità con i virus del DNA.



Figura 2: flusso di lavoro di Illumina Microbial Amplicon Prep. In un flusso di lavoro semplificato, le librerie microbiche vengono preparate utilizzando il kit Illumina Microbial Amplicon Prep, sequenziate su qualsiasi sistema di sequenziamento da banco Illumina e analizzate nell'app DRAGEN Targeted Microbial per il rilevamento, l'identificazione di varianti e la tipizzazione dei ceppi. \*Il kit include gli indici per la preparazione delle librerie. Gli oligonucleotidi del primer devono essere acquistati separatamente.

## Preparazione delle librerie

Il kit Illumina Microbial Amplicon Prep comprende i reagenti necessari per la conversione del DNA complementare (cDNA, Complementary DNA), l'amplificazione e la preparazione della libreria. Il kit è compatibile con primer progettati in laboratorio o set di primer disponibili in commercio, da acquistare separatamente. Si raccomandano lunghezze di ampliconi di 400 coppie di basi, ma con alcuni target potrebbero essere necessari ampliconi più lunghi.

## Sequenziamento

Le librerie preparate possono essere sequenziate su qualsiasi sistema di sequenziamento Illumina; tuttavia, la configurazione a basso rendimento di Illumina Microbial Amplicon Prep è perfetta per le piattaforme da banco, come i sistemi iSeq™ 100, MiniSeq™, MiSeq™, NextSeq™ 500, NextSeq 550, NextSeq 1000 e NextSeq 2000. Si consigliano lunghezze di lettura di  $2 \times 101$  bp e  $2 \times 151$  bp.

## Analisi dei dati

L'app Illumina DRAGEN™ Targeted Microbial è disponibile gratuitamente su BaseSpace™ Sequence Hub. L'app di facile utilizzo allinea le letture ai genomi di riferimento, identifica le varianti e genera una sequenza di genomi con consenso che rappresenta la popolazione delle specie di acido nucleico nel campione (Figura 3). Quando disponibili, per un'ulteriore analisi dei lignaggi, è possibile accedere a database esterni selezionati.

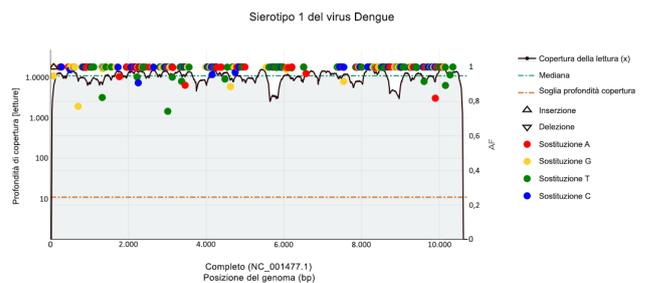


Figura 3: diagramma di copertura del genoma del virus Dengue generato utilizzando l'app Illumina DRAGEN Targeted Microbial. L'output del diagramma di copertura dall'app DRAGEN Targeted Microbial è interattivo, con la possibilità di passare da una scala logaritmica all'altra, di includere o escludere le linee di copertura mediane e/o le informazioni sulla sostituzione/delezione. Ogni cerchio rappresenta un SNP che varia dal genoma di riferimento. Ogni colore indica se si tratta di una sostituzione A, G, T o C. Le inserzioni e le delezioni sono indicate anche dai triangoli. Il diagramma di copertura mostra un singolo consenso genomico mappato sul miglior risultato dal database di riferimento (NC\_001477.1). I grafici interattivi possono essere scaricati come file PNG come mostrato sopra.

## Riepilogo

Il kit Illumina Microbial Amplicon Prep consente ai ricercatori dei sistemi sanitari pubblici di proteggere la salute delle loro comunità fornendo una soluzione integrata per la preparazione delle librerie microbiche. Questo saggio flessibile è compatibile con i primer progettati dall'utente e supporta gli input di RNA o DNA estratti da un'ampia gamma di fonti di campioni. L'integrazione con le innovative piattaforme NGS offre un'eccezionale qualità dei dati, flessibilità e scalabilità per una sorveglianza della salute pubblica a elevata efficacia.

## Maggiori informazioni

[Illumina Microbial Amplicon Prep](#)

[Genomica microbica](#)

## Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
Illumina Microbial Amplicon Prep (48 samples)	20097857

## Bibliografia

1. Chen Z, Azman AS, Chen X, et al. [Global landscape of SARS-CoV-2 genomic surveillance and data sharing](#). *Nat Genet.* 2022;54(4):499-507. doi:10.1038/s41588-022-01033-y
2. Hodcroft EB, Zuber M, Nadeau S, et al. [Spread of a SARS-CoV-2 variant through Europe in the summer of 2020](#). *Nature.* 2021;595(7869):707-712. doi:10.1038/s41586-021-03677-y
3. Wilkinson E, Giovanetti M, Tegally H, et al. [A year of genomic surveillance reveals how the SARS-CoV-2 pandemic unfolded in Africa](#). *Science.* 2021;374(6566):423-431. doi:10.1126/science.abj4336
4. Faria NR, Sabino EC, Nunes MRT, Alcantara LCJ, Loman NJ, Pybus OG. [Mobile real-time surveillance of Zika virus in Brazil](#). *Genome Med.* 2016;8(1):97. doi:10.1186/s13073-016-0356-2
5. Giovanetti M, Faria NR, Lourenço J, et al. [Genomic and Epidemiological Surveillance of Zika Virus in the Amazon Region](#). *Cell Rep.* 2020;30(7):2275-2283.e7. doi:10.1016/j.celrep.2020.01.085
6. Gire SK, Goba A, Andersen KG, et al. [Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak](#). *Science.* 2014;345(6202):1369-1372. doi:10.1126/science.1259657
7. Tiwari A, Adhikari S, Kaya D, et al. [Monkeypox outbreak: Wastewater and environmental surveillance perspective](#). *Sci Total Environ.* 2023;856(Pt 2):159166. doi:10.1016/j.scitotenv.2022.159166



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](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-01788 ITA v1.1