

Illumina Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B

Solution rationalisée de préparation de bibliothèques pour la recherche sur le virus de la grippe et la surveillance de la santé publique

- Permet une couverture rapide et authentique du génome entier des souches du virus grippal A et B
- Prend en charge des entrées d'ARN à partir de divers types d'échantillons et diverses charges virales
- Simplifie l'analyse du génome entier et l'interprétation des variants

Introduction

Les souches du virus grippal A et B peuvent provoquer des flambées de maladies respiratoires saisonnières, pandémiques et zoonotiques, représentant une menace mondiale pour la santé humaine et animale. La pandémie de COVID-19 a démontré l'utilité de la surveillance génomique des pathogènes basée sur le séquençage de nouvelle génération (SNG), permettant aux chercheurs de suivre les variants émergents et d'orienter la réaction des services de santé publique. Des approches similaires basées sur les amplicons ont été mises en œuvre pour séquencer et caractériser les virus de la grippe^{1,2}. Cependant, les virus de la grippe présentent une variabilité génomique élevée, rendant difficile leur séquençage précis. De plus, de nombreux protocoles de séquençage disponibles ne sont pas rationalisés et peuvent générer des résultats de séquençage variables.

La trousse Illumina Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B Kit est basée sur le test Illumina COVIDSeq^{MC} Assay éprouvé et permet un séquençage et une caractérisation précis, rapides et authentiques des virus grippaux. L'intégration à l'application conviviale DRAGEN^{MC} Targeted Microbial App facilite l'analyse des données, rendant l'identification des variants et le sous-typage viral accessibles aux laboratoires sans nécessiter d'expertise en bioinformatique. Dans le cadre d'un flux de travail intégré et évolutif (figure 1), Illumina Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B Kit permet aux chercheurs d'intensifier leurs efforts de surveillance génomique pour protéger la santé de leurs communautés.

Flux de travail rationalisé

Illumina Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B est une solution de préparation de bibliothèques basée sur la RT-PCR hautement multiplexée pour le séquençage et la caractérisation rapides et authentiques du virus de la grippe (tableau 1). Cette trousse, basée sur le flux de travail fiable d'Illumina COVIDSeq Assay, comprend des étapes pour l'isolation du matériel génétique par séquençage et analyse des données pour la détection et la caractérisation des souches du virus de la grippe (figure 1).

Préparation des bibliothèques

Illumina Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B Kit comprend les réactifs nécessaires à la transcription inverse de l'ARN, à l'amplification par PCR, aux transposomes liés aux billes pour la tagmentation des amplicons et aux adaptateurs indexés pour générer des bibliothèques de séquençage à partir d'amplicons de génome entier (figure 2). La trousse est compatible avec l'extraction d'ARN à l'aide de trousse disponibles sur le marché.

Tableau 1 : Temps de traitement total et durée de manipulation

Nbre d'échantillons	Temps de traitement	Durée de manipulation
8 échantillons	8 heures	1,9 heure
48 échantillons	9,3 heures	3,2 heures

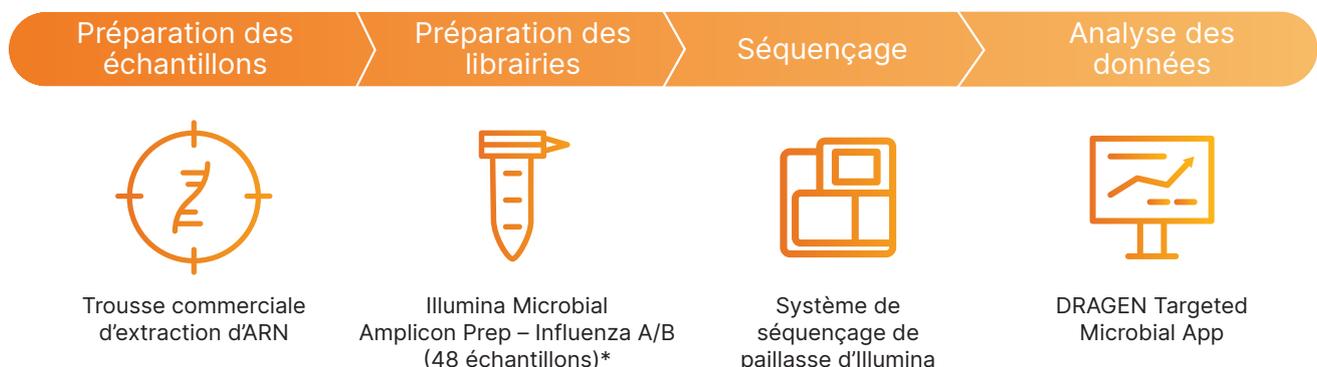


Figure 1 : Flux de travail d'Illumina Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B – Dans le cadre d'un flux de travail rationalisé, les bibliothèques du virus de la grippe sont préparées à l'aide d'Illumina Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B Kit, séquencées sur n'importe quel système de séquençage de paillasse d'Illumina et analysées dans DRAGEN Targeted Microbial App pour la détection, l'appel des variants et le typage des souches. * La trousse fournit tous les réactifs nécessaires à la préparation des bibliothèques, notamment un regroupement de primers universels du virus de la grippe A/B, des réactifs RT-PCR et des index doubles uniques. Les réactifs d'extraction de l'ARN ne sont pas inclus.

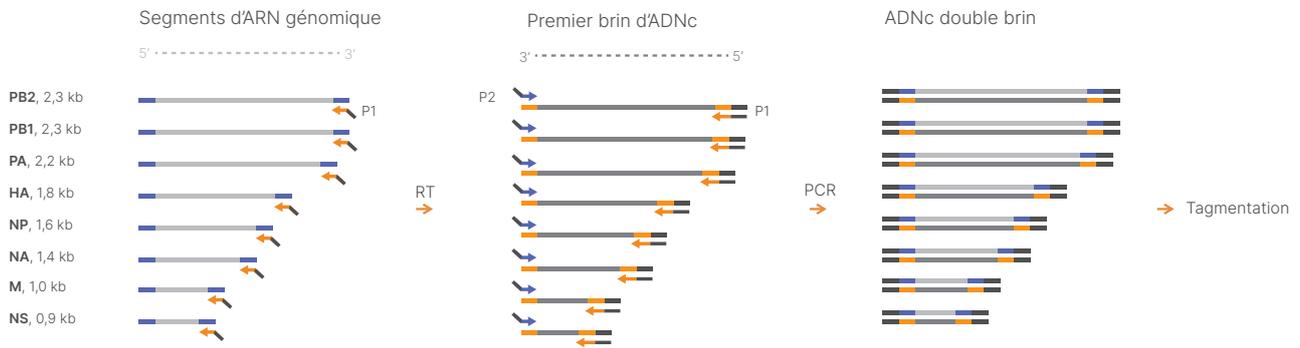


Figure 2 : Approche RT-PCR universelle du génome entier du virus de la grippe A/B pour générer des amplicons prêts pour la tagmentation – Le regroupement de primers du virus de la grippe A/B contient 16 primers conçus pour l'hybridation aux extrémités 3' saillantes des premier et deuxième brins d'ADN complémentaire (ADNc), ce qui permet à la fois la synthèse d'ADNc pleine longueur de chaque segment d'ARN génomique et l'amplification par PCR subséquente pour produire des amplicons complets prêts pour la tagmentation et l'achèvement des bibliothèques. Les lignes orange représentent les régions non codantes conservées du segment d'ARN génomique. Les lignes noires représentent les séquences d'ADN supplémentaires ajoutées par les primers universels.

Séquençage

Les bibliothèques préparées peuvent être séquencées sur n'importe quel système de séquençage Illumina. Cependant, la configuration à 48 échantillons d'Illumina Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B en fait une trousse idéale pour les plateformes de paillasse, comme les systèmes iSeq^{MC} 100, MiniSeq^{MC}, MiSeq^{MC}, NextSeq^{MC} 500, NextSeq 550, NextSeq 1000 et NextSeq 2000.

Analyse des données

Illumina DRAGEN Targeted Microbial App est une application disponible gratuitement sur BaseSpace^{MC} Sequence Hub. Cette application facile à utiliser permet d'aligner les lectures sur les génomes de référence, de réaliser des appels de variants et de générer une séquence de consensus génomique représentant la population des espèces d'acide nucléique dans l'échantillon (figure 3). Lorsqu'elles sont disponibles, les bases de données externes conservées sont accessibles pour d'autres analyses de lignées.

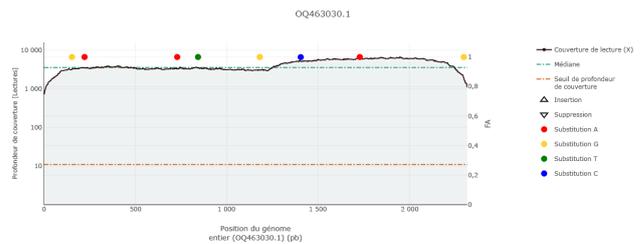


Figure 3 : Courbe de couverture du virus de la grippe A générée à l'aide d'Illumina DRAGEN Targeted Microbial App – La courbe de couverture générée par Illumina DRAGEN Targeted Microbial App est interactive; elle permet de basculer entre les échelles logarithmiques, d'inclure ou d'exclure les lignes de couverture médianes et/ou les données de substitution/suppression. Pour les virus segmentés, comme les virus de la grippe A et B, chaque segment est représenté par une courbe de couverture distincte. Chaque cercle représente un polymorphisme mononucléotidique qui varie du génome de référence. Chaque couleur indique s'il s'agit de substitutions A, G, T ou C. Les insertions et les suppressions sont également signalées par des triangles. Les courbes interactives peuvent être téléchargées sous forme de fichiers PNG comme indiqué ici.

Excellente couverture des génomes du virus de la grippe A/B

ILLUMINA Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B est conçue pour fournir une couverture de séquence étendue des génomes des virus de la grippe A et B. Cette trousse comprend un groupe de 16 primers universels reconnus et éprouvés^{3,4} qui offrent une couverture de plus de 98 % pour les souches du virus de la grippe A et B, notamment les gènes hautement variables de la neuraminidase (NA) et de l'hémagglutinine (HA) (figure 4, figure 5)⁵.

La trousse flexible Illumina Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B Kit est compatible avec les échantillons d'ARN isolés à l'aide de protocoles d'extraction standard sans nécessiter de modifications. La qualité et la charge virale des échantillons de recherche clinique, notamment les prélèvements nasaux, peuvent varier. Illumina Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B Kit affiche d'excellentes performances pour l'ensemble des isolats viraux avec des valeurs Ct allant de 21,2 à 31,1 (c.-à-d. des titres de virus élevés à faibles). Pour des résultats optimaux, il est recommandé d'utiliser des échantillons dont les valeurs Ct sont inférieures à 30.

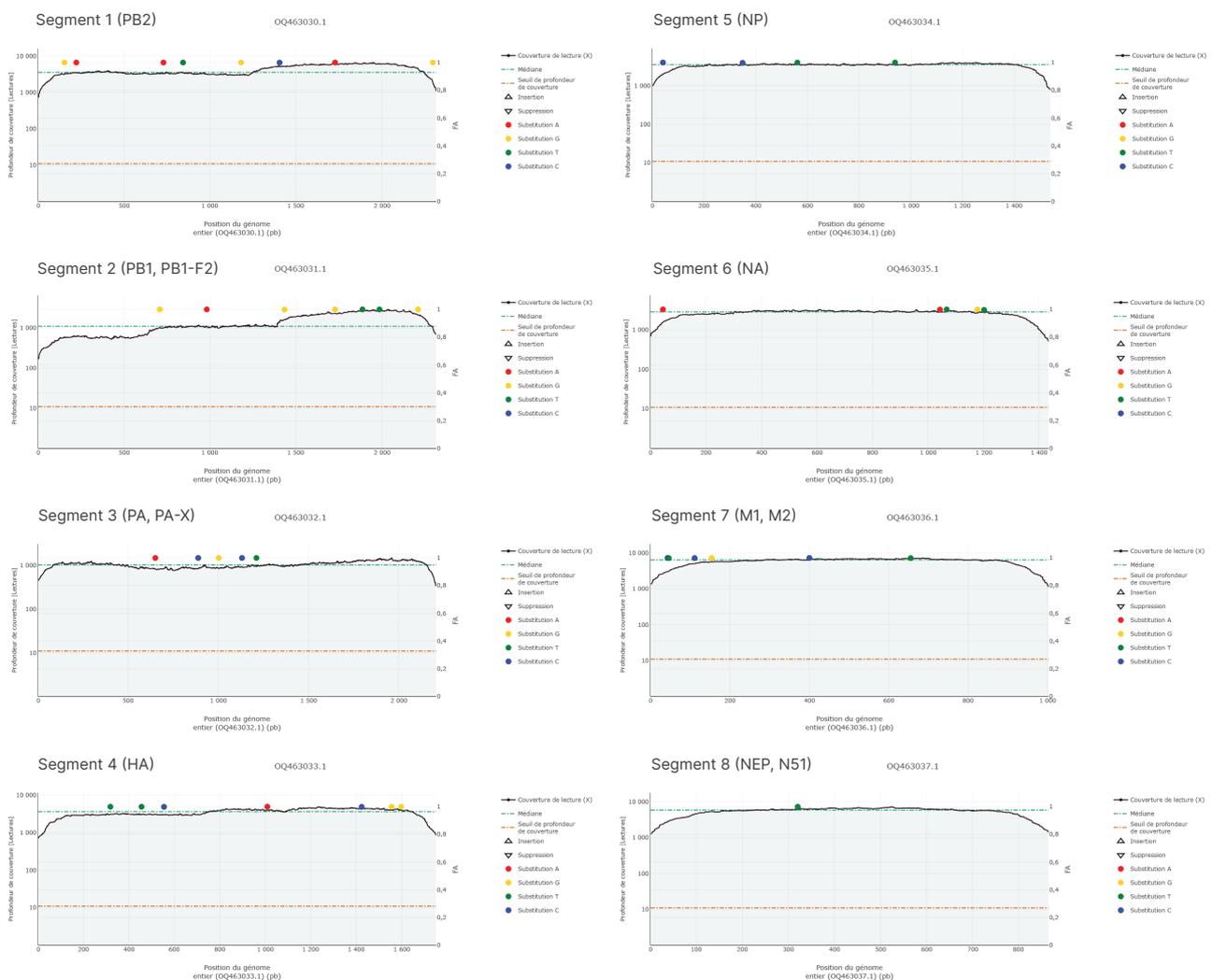


Figure 4 : Courbes de couverture génomique pour les échantillons de virus de la grippe A – Courbes de couverture représentatives d'un échantillon de virus H1N1 (valeur Ct = 21,2, ~ 482 copies d'ARN viral) provenant de prélèvements nasopharyngés montrant une couverture pangénomique sur les huit segments du virus de la grippe A. Chaque graphique représente la couverture de chaque segment du génome du virus de la grippe A. Les identifiants d'accès au génome de référence sont fournis dans chaque graphique. Les lignes pointillées représentent la profondeur de couverture médiane. Un million de lectures appariées (2 × 149 pb) ont été utilisées pour l'analyse des données. Les données ont été analysées à l'aide de DRAGEN Targeted Microbial App.

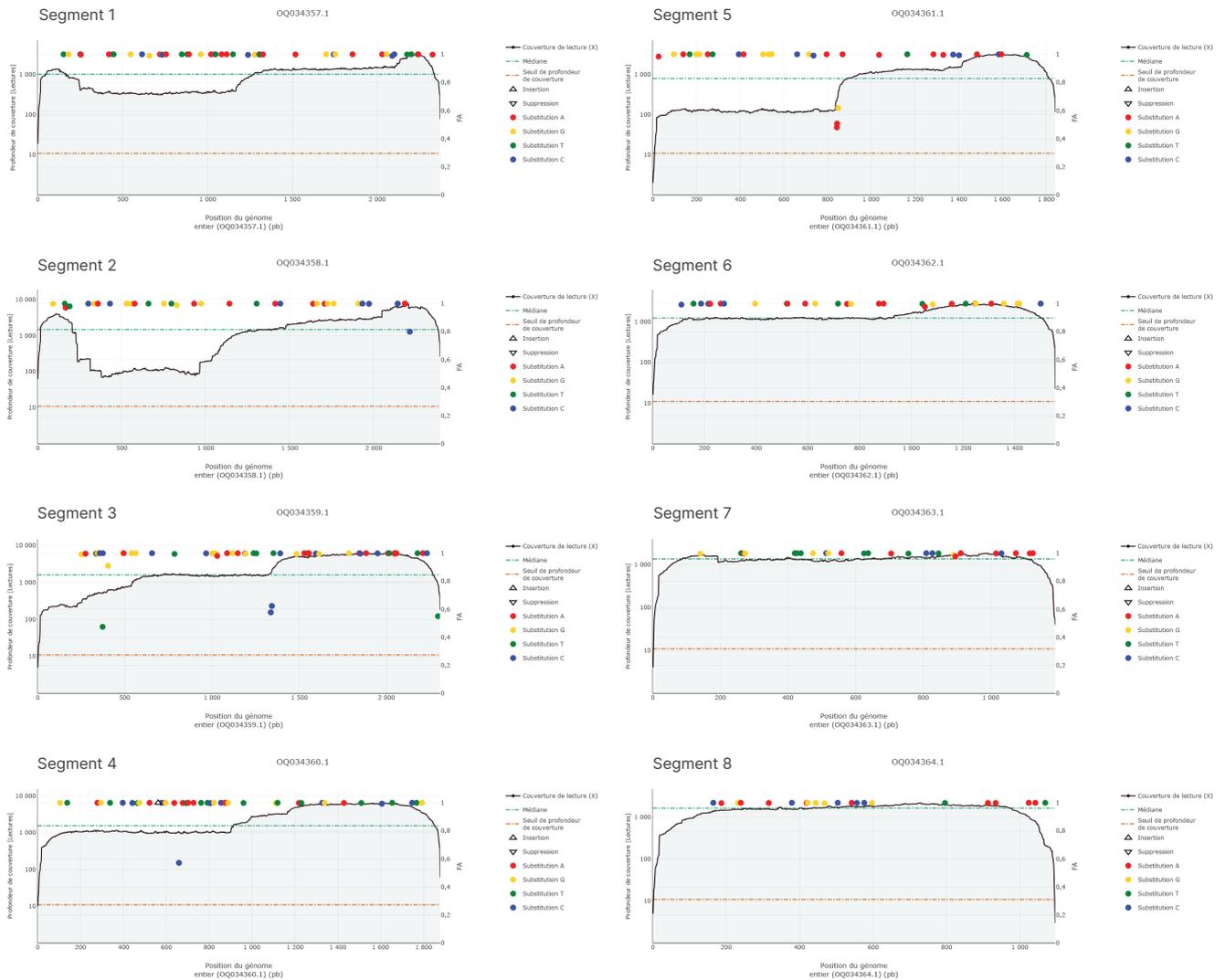


Figure 5 : Courbes de couverture génomique pour les échantillons de virus de la grippe B – Courbes de couverture représentatives d'un échantillon de virus de la grippe B (ATCC VR-1735, valeur Ct = 22,1, ~ 85 000 copies d'ARN viral) montrant une couverture pangénomique sur les huit segments du virus de la grippe B. Chaque graphique représente la couverture de chaque segment du génome du virus de la grippe B. Les identifiants d'accès au génome de référence sont fournis dans chaque graphique. Les lignes pointillées représentent la profondeur de couverture médiane. Un million de lectures appariées (2×149 pb) ont été utilisées pour l'analyse des données. Les données ont été analysées à l'aide de DRAGEN Targeted Microbial App.

Résumé

Illumina Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B Kit permet aux chercheurs en santé publique de protéger la santé de leurs communautés en fournissant une solution rationalisée pour la caractérisation et la surveillance du virus de la grippe. Ce test flexible est compatible avec les entrées d'ARN extraites de cultures ou de prélèvements nasaux et les lavages avec des charges virales variables. L'intégration avec des plateformes innovantes de séquençage de nouvelle génération (SNG) offre une qualité, une flexibilité et une évolutivité exceptionnelles des données pour assurer une surveillance de la santé publique très efficace et obtenir une recherche à fort impact sur le virus de la grippe.

En savoir plus

[Illumina Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B](#)

[Génomique microbienne](#)

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
Illumina Microbial Amplicon Prep – Influenza A/B (48 échantillons)	20106305

Références

1. Lee HK, Lee CK, Tang JWT, Loh TP, Koay ESC. [Contamination-controlled high-throughput whole genome sequencing for influenza A viruses using the MiSeq sequencer.](#) *Sci Rep.* 2016;6:33318. doi:10.1038/srep33318
2. Imai K, Tamura K, Tanigaki T, et al. [Whole Genome Sequencing of Influenza A and B Viruses With the MinION Sequencer in the Clinical Setting: A Pilot Study.](#) *Front Microbiol.* 2018;9:2748. doi:10.3389/fmicb.2018.02748
3. Zhou B, Wentworth DE. [Influenza A virus molecular virology techniques.](#) *Methods Mol Biol.* 2012;865:175-192. doi:10.1007/978-1-61779-621-0_11
4. Zhou B, Lin X, Wang W, et al. [Universal influenza B virus genomic amplification facilitates sequencing, diagnostics, and reverse genetics.](#) *J Clin Microbiol.* 2014;52(5):1330-1337. doi:10.1128/JCM.03265-13
5. Protocols.io. A sequencing and subtyping protocol for influenza A and B viruses using Illumina COVIDSeq Assay Kit. www.protocols.io/view/a-sequencing-and-subtyping-protocol-for-influenza-n2bvj8mrwgk5. Publié le 28 mars 2023. Consulté le 21 juin 2023.



Numéro sans frais aux États-Unis : + (1) 800 809-4566 | Téléphone : + (1) 858 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.
 M-GL-01898 FRA v1.0