

Illumina Microbial Amplicon Prep

Vielseitige Bibliotheks-
vorbereitungslösung für die
Überwachung im Bereich
Öffentliche Gesundheit und
die Forschung im Bereich
Mikrobiologie

- Unterstützt anwenderspezifische Primer zur Sequenzierung von Pathogenen, die ein Risiko für die öffentliche Gesundheit darstellen
- Ermöglicht eine leistungsstarke genomweite Coverage mehrerer mikrobieller Spezies
- Geeignet für DNA- und RNA-Zugaben einer Vielzahl von Probenquellen und -typen



Einleitung

Durch die COVID-19-Pandemie wurde die Bedeutung wirksamer Virenüberwachungssysteme zur Identifizierung, Überwachung und Kontrolle von Krankheitsausbrüchen deutlich. Ab sofort ist mithilfe von Next-Generation Sequencing (NGS, Sequenzierung der nächsten Generation) die genomische Überwachung endemischer und neuer Infektionskrankheiten, einschließlich durch die Viren SARS-CoV-2¹⁻³, Zika^{4, 5}, Ebola⁶ und Mpox⁷ (früher Affenpocken) verursachte Infektionskrankheiten, auf Populationsebene möglich.

Beim Illumina Microbial Amplicon Prep Kit handelt es sich um einen sequenzierungsbasierten Assay mit niedrigem bis mittlerem Durchsatz, der die Analyseleistung in der Mikrobiologie sowie bei der Erforschung von Infektionskrankheiten erhöht. Mit diesem Kit, das den bewährten Illumina COVIDSeq™ Assay-Workflow nutzt, können Forscher im Labor entwickelte oder im Handel erhältliche Primer für die gezielte Sequenzierung von Viren verwenden und Regionen aus verschiedenen größeren mikrobiellen Spezies, einschließlich Bakterien oder Parasiten, auswählen. Diese vielseitige Bibliotheksvorbereitungslösung unterstützt zahlreiche Forschungsanwendungen im Bereich Öffentliche Gesundheit, einschließlich des Trackings von Pathogenen über bestimmte Zeiträume und Regionen hinweg, der Erkennung von Varianten, der Klassifizierung von Pathogenstämmen und der Identifizierung mikrobieller Resistenzmarker.

Hervorragende Leistung bei verschiedenen mikrobiellen Spezies

Illumina Microbial Amplicon Prep bietet in Kombination mit geeigneten Primern eine Sequenz-Coverage über virale Genome hinweg, einschließlich RNA- und DNA-Viren (Abbildung 1). Dieses Kit ermöglicht je nach Anwendung die gezielte Sequenzierung entweder ganzer Genome oder bestimmter Virenregionen. Für mikrobielle Spezies mit größeren Genomen können Primer auf ausgewählte Regionen angewendet werden.

Illumina Microbial Amplicon Prep kann mit aus verschiedenen Quellen (z. B. aus mikrobiellen Kulturen, nasopharyngealen Abstrichen, Hautabstrichen, nasalen Abstrichen und Abwasserproben) extrahierter RNA oder DNA verwendet werden. Für eine erfolgreiche Bibliotheksvorbereitung wird empfohlen, hochwertige Zugabe-DNA oder -RNA zu verwenden, die nach der Extraktion zusätzlichen Reinigungsschritten unterzogen wurde.

Optimierter Workflow

Bei Illumina Microbial Amplicon Prep handelt es sich um eine hochgradig multiplexierte PCR-basierte Bibliotheksvorbereitungslösung zur Verwendung mit mikrobiellen Targets. Dieses Kit basiert auf dem robusten Illumina COVIDSeq Assay-Workflow, der von der Isolierung genetischen Materials bis hin zur Sequenzierung und Datenanalyse zur Erkennung und Charakterisierung mikrobieller Spezies den gesamten Prozess abdeckt (Abbildung 2).

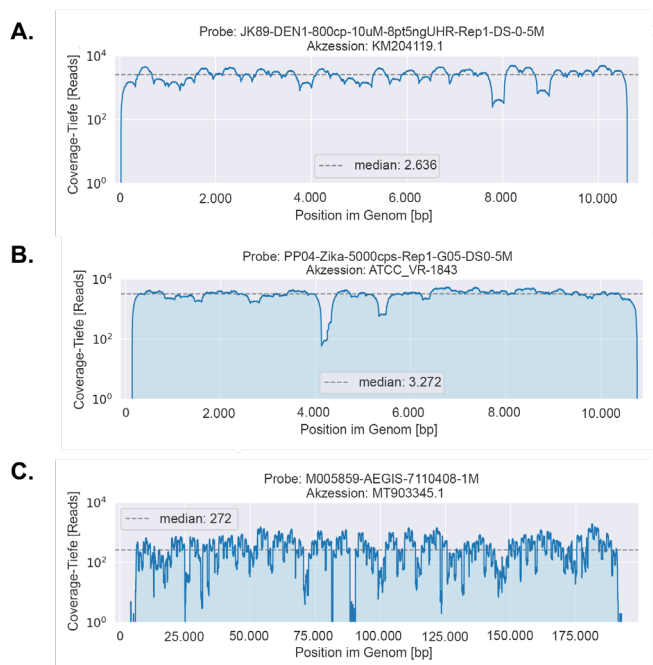


Abbildung 1: Genomweite Coverage für RNA- und DNA-Viren: Illumina Microbial Amplicon Prep bietet eine Genom-Coverage von über 95 % bei einer Viruskopienzugabe von 800 für (A) das Dengue- und (B) das Zika-RNA-Virus. (C) Das Coverage-Diagramm für das Mpox-Virus zeigt die Kompatibilität mit DNA-Viren.

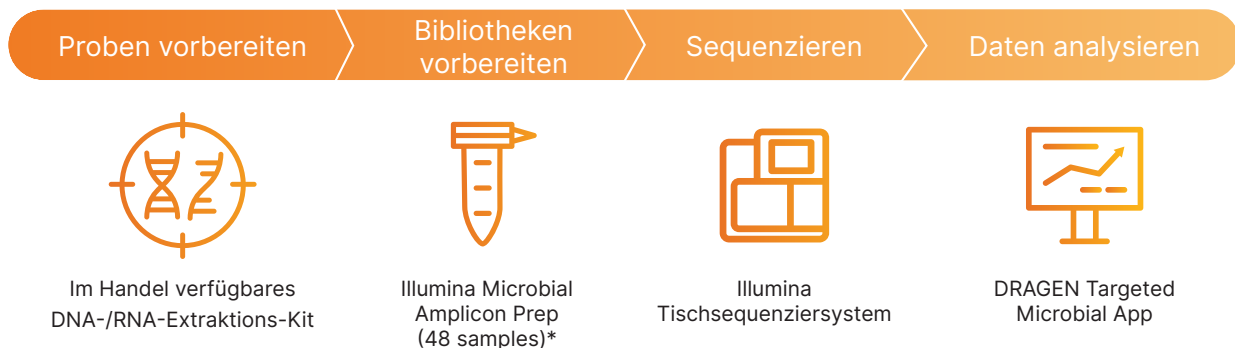


Abbildung 2: Illumina Microbial Amplicon Prep-Workflow: In einem optimierten Workflow werden mikrobielle Bibliotheken mit dem Illumina Microbial Amplicon Prep Kit vorbereitet, mit einem beliebigen Illumina Tischsequenziersystem sequenziert und für Erkennung, Varianten-Calling und Stammtypisierung in der DRAGEN Targeted Microbial App analysiert. * Das Kit umfasst Indizes für die Bibliotheksvorbereitung. Primer-Oligos müssen separat erworben werden.

Bibliotheksvorbereitung

Das Illumina Microbial Amplicon Prep Kit umfasst Reagenzien, die für die cDNA-Umwandlung, die Amplifikation und die Bibliotheksvorbereitung benötigt werden. Das Kit kann mit im Labor entwickelten Primern oder im Handel erhältlichen, separat erworbenen Primer-Sets eingesetzt werden. Es werden Ampliconlängen von 400 Basenpaaren empfohlen, bei einigen Targets sind jedoch ggf. längere Amplicons erforderlich.

Sequenzierung

Vorbereitete Bibliotheken können auf beliebigen Illumina Sequenziersystemen sequenziert werden. Aufgrund der Konfiguration für niedrigen Durchsatz ist Illumina Microbial Amplicon Prep jedoch ideal für Tischsysteme wie iSeq™ 100, MiniSeq™, MiSeq™, NextSeq™ 500, NextSeq 550, NextSeq 1000 und NextSeq 2000. Es werden Read-Längen von 2×101 bp und 2×151 bp empfohlen.

Datenanalyse

Die Illumina DRAGEN™ Targeted Microbial App steht in BaseSpace™ Sequence Hub kostenlos zur Verfügung. Die anwenderfreundliche App ermöglicht das Alignment von Reads auf Referenzgenome, das Varianten-Calling sowie die Erstellung einer Konsens-Genomsequenz, die die Verbreitung der Nukleinsäurespezies in der Probe darstellt (Abbildung 3). Wenn verfügbar, werden für eine weiterführende Lineage-Analyse externe kuratierte Datenbanken hinzugezogen.

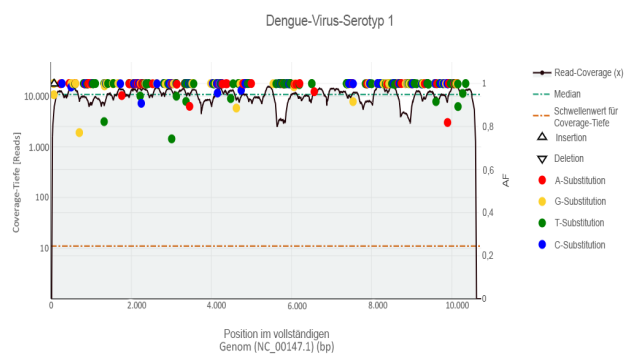


Abbildung 3: Coverage-Diagramm für das Dengue-Virusgenom, erstellt in der Illumina DRAGEN Targeted Microbial App: Die Ausgabe des Coverage-Diagramms der DRAGEN Targeted Microbial App ist interaktiv. Das Umschalten auf die Log-Skala, das Ein- oder Ausblenden der Medianlinien der Coverage und/oder eine Substitution/Deletion sind möglich. Jeder Kreis steht für einen SNP, der vom Referenzgenom abweicht. Die Farbe gibt an, ob es sich um eine A-, G-, T- oder C-Substitution handelt. Insertionen und Deletionen werden durch Dreiecke gekennzeichnet. Das Coverage-Diagramm zeigt ein einzelnes Konsensusgenom, das dem besten Treffer aus der Referenzdatenbank (NC_001477.1) zugeordnet ist. Interaktive Diagramme (wie oben dargestellt) können als PNG-Dateien heruntergeladen werden.

Zusammenfassung

Als integrierte Lösung für die Vorbereitung mikrobieller Bibliotheken ermöglicht das Illumina Microbial Amplicon Prep Kit Forschern im Gesundheitswesen, die öffentliche Gesundheit zu schützen. Dieser flexible Assay ist mit anwenderspezifischen Primern kompatibel und unterstützt RNA- oder DNA-Zugaben, die aus verschiedenen Probenquellen extrahiert wurden. Dank der Integration in innovative NGS-Plattformen sind eine außergewöhnliche Datenqualität, Flexibilität und Skalierbarkeit gewährleistet, was eine äußerst effektive Überwachung im Bereich Öffentliche Gesundheit ermöglicht.

Weitere Informationen

[Illumina Microbial Amplicon Prep](#)

[Mikrobielle Genomik](#)

Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
Illumina Microbial Amplicon Prep (48 samples)	20097857

Quellen

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



+1.800.809.4566 (USA, gebührenfrei) | +1.858.202.4566 (Tel. außerhalb der USA)
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Inhaber. Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-01788 DEU v1.0