

Pan-Coronavirus Panel

Surveillance génomique
des coronavirus connus
et nouveaux dans les
réservoirs animaux

- Utilisez le panel avec la solution de préparation de bibliothèques Illumina RNA Prep with Enrichment et les systèmes de séquençage de nouvelle génération (SNG) et le logiciel d'analyse d'Illumina
- Bénéficiez d'un séquençage des souches flexible avec un enrichissement des cibles par capture hybride
- Générez une couverture génomique complète des coronavirus connus et nouveaux

Introduction

La pandémie de COVID-19 sévit dans le monde entier depuis 2019¹. Il s'agit de la quatrième et la plus mortelle épidémie de coronavirus depuis 20 ans. Les épidémies précédentes comprennent deux épidémies distinctes de syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) en 2002 et 2003 et une épidémie de syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS, Middle East Respiratory Syndrome) en 2012. Ce schéma de coronavirus émergeant de sources zoonotiques et à l'origine de crises de santé publique devrait se répéter à l'avenir^{2,3}. Il souligne la nécessité de mettre en place une surveillance génomique pour identifier et surveiller les coronavirus chez les hôtes animaux. Cela aidera les scientifiques et les responsables de la santé publique à mieux comprendre l'évolution et la pathogénicité du coronavirus dans le but de prévenir de futures pandémies.

Pour répondre à ce besoin, Illumina propose le Pan-Coronavirus Panel. Associé à Illumina RNA Prep with Enrichment, Pan-Coronavirus Panel permet la détection et le séquençage de 225 coronavirus humains et animaux connus et de nouveaux coronavirus étroitement liés qui peuvent devenir contagieux pour l'homme.

Contenu de panel ciblé et flexible

Le contenu du Pan-Coronavirus Panel comprend des oligos de capture hybride répartis dans des génomes de référence de plusieurs genres de coronavirus (tableau 1) et divers hôtes animaux connus (tableau 2). L'approche d'enrichissement de la cible permet de capturer des mutations et des variants dans l'ensemble du génome viral, permettant ainsi le séquençage de souches de coronavirus connues et nouvelles et la détection de recombinaisons entre souches.

Tableau 1 : Genres de coronavirus inclus dans le panel

Génome viral	Nbre de génomes
Alphacoronavirus	69
Bafinivirus	1
Betacoronavirus	59
Deltacoronavirus	13
Gammacoronavirus	61
Coronaviridae non classés	22
Total	225

Tableau 2 : Génomes des coronavirus associés à un hôte connu inclus dans le panel

Espèce	Nbre de génomes
Chauve-souris	64
Rat	32
Vison, pangolin, souris, cochon, serpent	28
Oiseau	25
Vache, chameau, chèvre, cheval	11
Dauphin, baleine, poisson	9
Être humain	7
Chien	7
Chat, furet	6
Hérisson	2

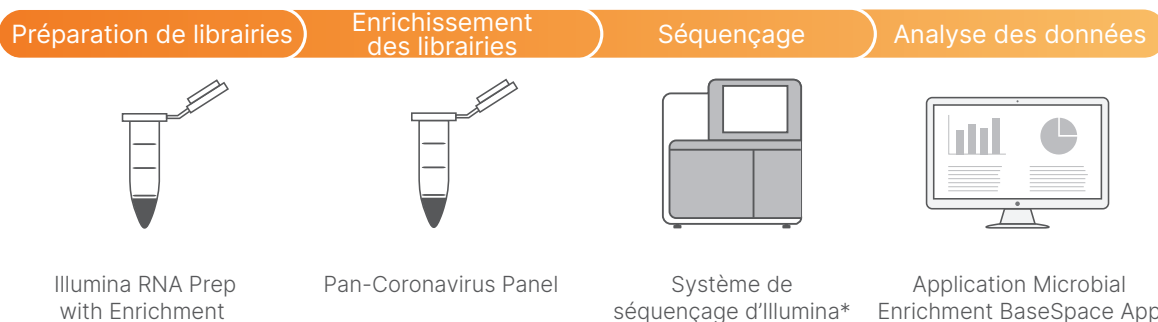


Figure 1 : Flux de travail de l'appel des variants – Pan-Coronavirus Panel fait partie d'un flux de travail intégré qui comprend la préparation des bibliothèques, le séquençage et l'analyse simplifiée des données dans BaseSpace Sequence Hub.

* Le séquençage peut être effectué sur les systèmes MiniSeq, MiSeq, NextSeq 550, NextSeq 1000 ou NextSeq 2000 d'Illumina.

Fait partie d'un flux de travail intégré

Pan-Coronavirus Panel fait partie d'une solution de séquençage de virus intégrée (figure 1). Les bibliothèques sont préparées à l'aide d'Illumina RNA Prep with Enrichment et d'Illumina DNA/RNA UD Indexes. Après l'enrichissement avec Pan-Coronavirus Panel, les bibliothèques sont analysées sur un système de séquençage de nouvelle génération (SNG) d'Illumina. Avec une longueur de lecture recommandée de 2 × 150 pb et une profondeur de 0,5 à 1 million de lectures, le panel est idéal pour une utilisation avec les systèmes de paillasse tels que les systèmes MiniSeq^{MC}, MiSeq^{MC}, NextSeq^{MC} 550, NextSeq 1000 et NextSeq 2000. L'analyse par bouton-poussoir peut être effectuée sur l'application DRAGEN^{MC} Microbial Enrichment App, disponible gratuitement dans BaseSpace^{MC} Sequence Hub.

Couverture accrue du génome grâce à l'enrichissement de Pan-Coronavirus Panel

Pour démontrer la performance exceptionnelle de Pan-Coronavirus Panel, cinq échantillons viraux synthétiques (tableau 3) ont été ajoutés à l'ARN de référence humaine universelle (Agilent Technologies, référence n° 74000). Les bibliothèques ont été préparées en trois exemplaires à l'aide d'Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (Illumina, référence n° 20040537) et d'IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (Illumina, référence n° 20027214)*. L'enrichissement a été effectué avec Pan-Coronavirus Panel en regroupant les réplicats en réactions d'hybridation à trois niveaux. Les bibliothèques de contrôles enrichis et non enrichis ont été séquencées sur le NextSeq 550 System avec une longueur de lecture de 2 × 150 pb.

L'enrichissement avec Pan-Coronavirus Panel a multiplié par plus de 100 le nombre de lectures de Coronaviridae dans les bibliothèques testées, par rapport aux contrôles non enrichis (figure 2). L'enrichissement avec le panel a également entraîné une couverture exceptionnelle du génome viral (figure 3A). Bien qu'une longueur de lecture de 2 × 74 pb fournisse une couverture suffisante pour certains génomes viraux, une longueur de lecture de 2 × 150 pb fournit une meilleure couverture pour les génomes plus complexes. Pour obtenir les meilleurs résultats avec la plupart des génomes viraux,

* La référence n° 20027214 est désormais obsolète, elle est remplacée par Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 index, 96 échantillons), référence n° 20091656.

Illumina recommande la longueur de lecture plus longue de 2 × 150 pb (figure 3B). L'association d'une longueur de lecture plus longue et d'une profondeur de séquençage accrue améliore la couverture de certaines souches de coronavirus.

Tableau 3 : Échantillons de contrôle du coronavirus pour la validation

Échantillon	Genre
SRAS-CoV-2 (Twist Bioscience, référence n° 102019)	Betacoronavirus (2b)
SRAS-CoV-2 (BA.2) (Twist Bioscience, référence n° 105346)	Betacoronavirus (2b)
HCoV-OC43 (Twist Bioscience, référence n° 103013)	Betacoronavirus (2a)
HCoV-229E (Twist Bioscience, référence n° 103011)	Alphacoronavirus (1b)
HCoV-NL63 (Twist Bioscience, référence n° 103012)	Alphacoronavirus (1b)

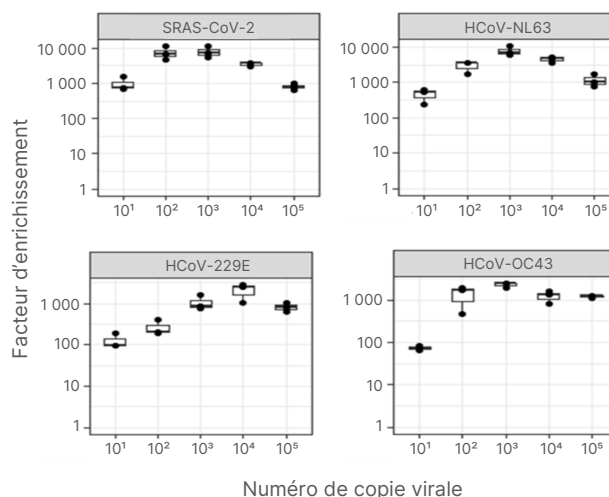


Figure 2 : Enrichissement des lectures de Coronaviridae – Pan-Coronavirus Panel a enrichi avec succès les lectures de Coronaviridae dans toutes les bibliothèques testées pour toute une série d'apports de copies virales. Le facteur d'enrichissement a été calculé comme étant le rapport des lectures de Coronaviridae dans les bibliothèques enrichies/non enrichies. Les données ont été sous-échantillonnées à 1 million d'amplifiats et retranchées à 74 pb. Le facteur d'enrichissement est réduit dans les titres viraux plus élevés, car les bibliothèques non enrichies sont plus performantes avec des titres viraux élevés. Cependant, les performances des bibliothèques enrichies restent élevées.

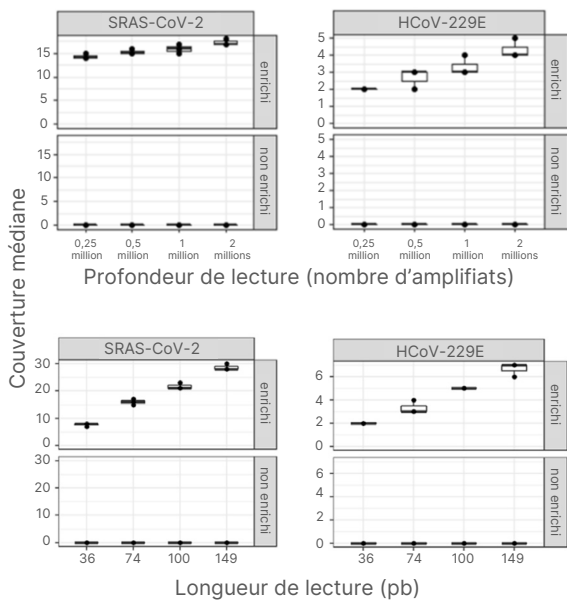


Figure 3 : Amélioration de la couverture du génome du coronavirus – Couverture médiane des contrôles d'ARN viral synthétique (SRAS-CoV-2 et HCoV-229E) dans la référence humaine universelle (UHR, Universal Human Reference) de 10 ng après l'enrichissement avec Pan-Coronavirus Panel. L'augmentation de la profondeur de lecture (en haut) et de la longueur de lecture (en bas) a permis d'améliorer la couverture du génome. Les longueurs de lecture ont été retranchées à 36, 74, 100 et 149 pb.

Séquençage des souches non incluses dans le panel

Le panel a été conçu avant l'émergence du variant Omicron BA.2 du SRAS-CoV-2. Cependant, l'enrichissement et le séquençage ont entraîné une couverture génomique complète de la souche Omicron BA.2 (figure 4). Cela démontre que Pan-Coronavirus Panel peut être utilisé pour séquencer les nouvelles souches de coronavirus qui ne sont pas incluses dans le panel.

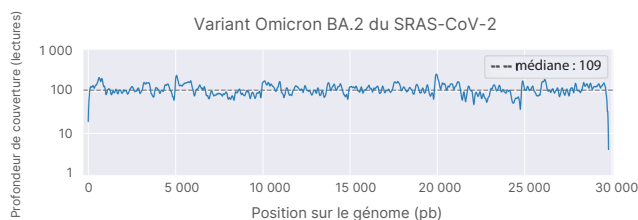


Figure 4 : Couverture génomique complète de la souche Omicron BA.2 – L'enrichissement avec Pan-Coronavirus Panel a entraîné une couverture de près de 100 % du variant Omicron BA.2 du SRAS-CoV-2.

Résumé

La pandémie de COVID-19 et les épidémies passées de coronavirus soulignent la nécessité de mettre en place une surveillance génomique pour identifier et surveiller les coronavirus chez les hôtes animaux. De tels efforts pourraient aider à prévenir de futures pandémies. Pan-Coronavirus Panel fait partie d'une solution intégrée qui comprend Illumina RNA Prep with Enrichment, un système de SNG de paillasse et une analyse par bouton-poussoir dans BaseSpace Sequence Hub. Il permet le séquençage de souches de coronavirus connues et nouvelles avec une couverture génomique complète, même avec un faible nombre de copies virales et beaucoup de bruit de fond de l'hôte, à des profondeurs de séquençage relativement faibles. La flexibilité intégrée au panel signifie que de nouvelles souches non incluses dans la conception initiale peuvent également être séquencées avec une couverture importante. Pan-Coronavirus Panel est un outil essentiel de notre arsenal pour lutter contre les futures épidémies virales.

En savoir plus

[Pan-Coronavirus Panel](#)

[Illumina RNA Prep with Enrichment](#)

[Liste de contrôle du protocole Illumina RNA Prep with Enrichment](#)

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
Pan-Coronavirus Panel (96 réactions)	20088155
Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (16 échantillons)	20040536
Illumina RNA Prep with Enrichment, (L) Tagmentation (96 échantillons)	20040537
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) 20091654	20027213
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) 20091656	20027214
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) 20091658	20042666
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 index, 96 échantillons) 20091660	20042667

Références

1. World Health Organization. [WHO Director-General's statement on IHR Emergency Committee on Novel Coronavirus \(2019-nCoV\)](#). Publié le 30 janvier 2020. Consulté le 9 septembre 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.



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-01239 FRA v2.0