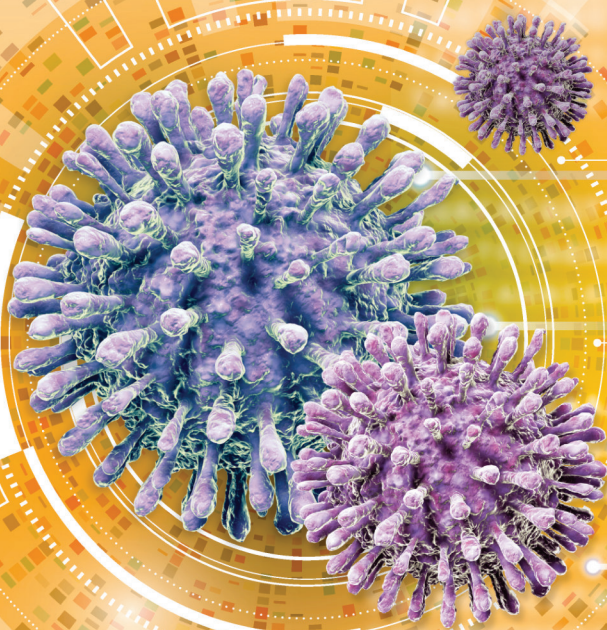




ATATATG
CACTACACCTTTCAATATAATTGGAAG
GGACCTACACCTTTCAATATAATTGGAAG
CACCTTTCAATATAATTGGAAGAAATATG
TGTATGT
TATCAATACGGGATGATTGTATGT
GTATCTATCAATACGGGATGATTGTAT
TACTATCAATACGGGATGATTGTATGT
GTCCATGTAGT
ATTATCATAGTAGCACTCATGTAGCC
AAAGTTATCATAGTAGCACTCATGTAG
AAATTATCATAGTAGCACTCATGTAG
GGACCA
AGAGGACCAGGGAGAGCATTGTGTTACAA
AGAGGACCAGGGAGAGCATTGTGTT
AGAGGACCAGGGAGAGCATTGTGTTACAA
TTGTTACAA

RUO

HIV-1

WHOLE GENOME

Rev. 02/2024

HIV-1 WHOLE GENOME

Background

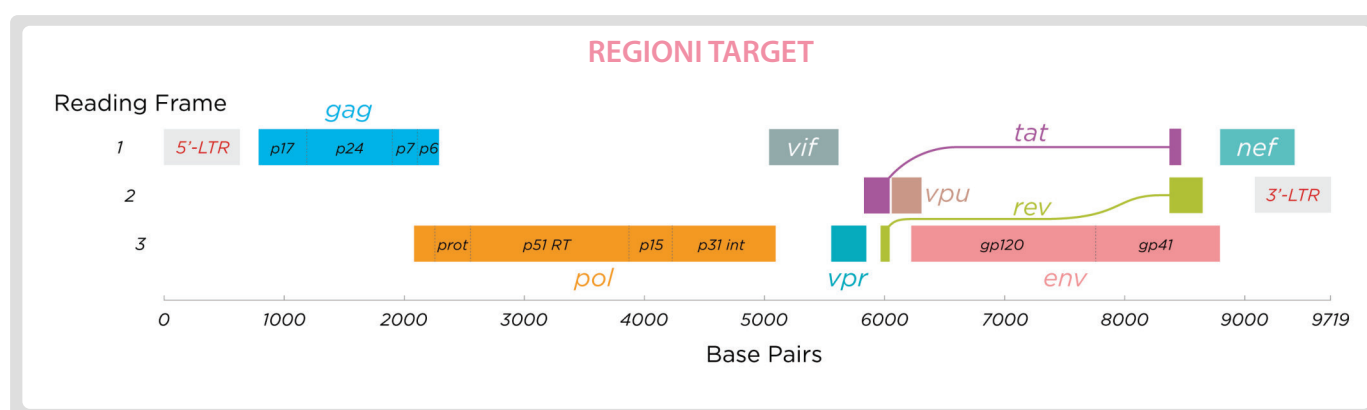
La valutazione delle farmacoresistenze per l'HIV-1 (HIVDR) è fondamentale per il successo delle terapie antiretrovirali (ART). Oltre a Proteasi, Trascrittasi Inversa, Integrasi, V3Loop, ulteriori regioni genomiche devono essere considerate per un'analisi completa dell'HIVDR.

Il kit HIV-1 *Whole Genome* permette di investigare importanti regioni virali tra cui l'antigene gruppo-specifico "gag", il fattore di infettività virale "vif", la proteina accessoria "nef" e le regioni adiacenti l'integrasi.

Gag è necessario per l'assemblaggio di HIV-1, vif ha un ruolo cruciale nel ciclo di vita del virus e nef ne promuove la virulenza, rendendo il virus dalle 10 alle 50 volte più resistente all'effetto neutralizzante degli anticorpi umani e dei relativi trattamenti. Inoltre, nuove terapie basate sull'utilizzo di inibitori dell'integrasi (John D. Zeuli et al., 2022) rendono lo studio dell'intero genoma di HIV-1 necessario al fine di ottenere un quadro approfondito circa le mutazioni presenti in pazienti HIV-1 positivi.

Principio del test / Destinazione d'uso

Il kit HIV-1 *Whole Genome* è un test qualitativo basato sull'amplificazione in RT-PCR dell'intero genoma virale di HIV-1 a partire da un campione umano di plasma o siero. In seguito all'amplificazione, il sequenziamento in Next Generation Sequencing (NGS) permette la genotipizzazione del virus e la valutazione delle farmacoresistenze (HIVDR). Questo prodotto può essere utilizzato come uno strumento per investigare le mutazioni virali presenti in pazienti HIV-1 positivi.



Tipologia di campioni

- ✓ Plasma
- ✓ Siero
- ... di pazienti HIV-1 positivi

Performance

- ✓ Preparazione della libreria per il sequenziamento in 8 ore
- ✓ Input: ≥ 1000 cp/ml
- ✓ Genotipizzazione di tutti i sottotipi del gruppo M di HIV-1, compresi i ricombinanti
- ✓ Rilevamento delle farmacoresistenze
- ✓ Tropismo di HIV-1 (gp120)
- ✓ Analisi del dato mediante software dedicato (sviluppato da SmartSeq S.r.l.)

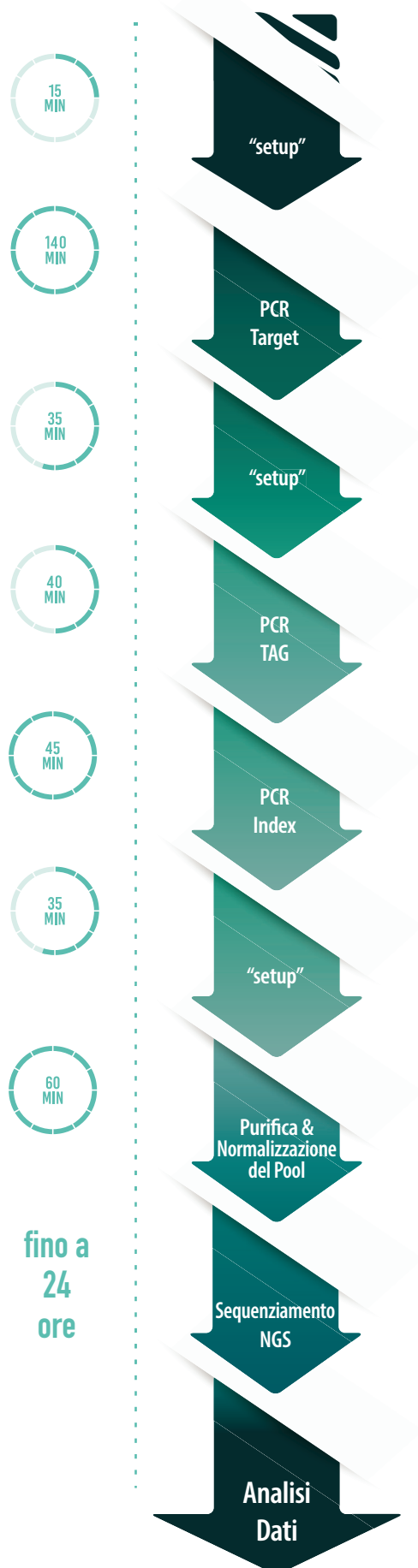
Estrazione dell'RNA – Metodi validati

- ✓ QIAamp® UltraSens Virus Kit (Qiagen)
- ✓ NUCLISENS® easyMAG (Biomérieux)
- ✓ EMAG® (Biomérieux)
- ✓ EZ1&2 Virus Mini Kit v2.0 (Qiagen)
- ✓ ELITE InGenius® (ELITechGroup SAS)
- ✓ Ogni altro metodo di estrazione è possibile previa validazione da parte dell'utente.

Sequenziamento NGS

- ✓ Illumina® MiSeq™
- ✓ Illumina® iSeq™ 100
- ✓ Illumina® MiniSeq™

Flusso di Lavoro



- ✓ Estrazione dell'RNA genomico del virus HIV-1
- ✓ Amplificazione dell'intero genoma mediante One-Step RT-PCR
- ✓ Controllo di qualità dei prodotti della PCR Target (es. elettroforesi su gel di agarosio o alternativa digitale)
- ✓ Purifica dei prodotti della PCR Target con biglie magnetiche AMPure®XP
- ✓ Digestione dei prodotti purificati della PCR Target
- ✓ Purifica dei prodotti della PCR TAG con biglie magnetiche AMPure®XP
- ✓ Indicizzazione dei campioni con indici univoci (fino a 192 indici disponibili)
- ✓ Controllo di qualità dei prodotti della PCR Index (es. elettroforesi su gel di agarosio o alternativa digitale)
- ✓ Purifica dei prodotti della PCR Index con biglie magnetiche AMPure®XP
- ✓ Quantificazione dei prodotti purificati della PCR Index (es. fluorimetro Qubit™ o metodi simili)
- ✓ Normalizzazione e pooling della libreria per il sequenziamento
- ✓ Illumina® MiSeq™
- ✓ Illumina® iSeq™ 100
- ✓ Illumina® MiniSeq™
- ✓ Analisi dei dati con software dedicato (sviluppato da SmartSeq s.r.l.) (software raccomandato per l'analisi dei dati)



Performance

- ✓ Preparazione della libreria per il sequenziamento in 8 ore
- ✓ Input: ≥ 1000 cp/ml
- ✓ Genotipizzazione di tutti i sottotipi del gruppo M di HIV-1, compresi i ricombinanti
- ✓ Rilevamento delle farmacoresistenze
- ✓ Tropismo di HIV-1 (gp120)
- ✓ Analisi del dato mediante software dedicato (sviluppato da SmartSeq S.r.l.)

Informazioni per il Sequenziamento

Strumento	Kit Illumina	Numero di campioni	Tempo di Sequenziamento (Dati Ufficiali Illumina®)
Illumina MiSeq™	MiSeq™ Reagent Nano Kit v2 (300 cycles)	Fino a 10	~ 20 h
Illumina MiSeq™	MiSeq™ Reagent Nano Kit v2 (500 cycles)	Fino a 16	~ 24 h
Illumina MiSeq™	MiSeq™ Reagent Micro Kit v2 (300 cycles)	Fino a 30	~ 39 h
Illumina MiniSeq™	MiniSeq™ Mid Output (300 cycles)	Fino a 60	~ 20 h
Illumina iSeq™100	iSeq™ 100 i1 Reagent (300 cycles)	Fino a 30	~ 17 h

Informazioni per l'ordine

Cat. No.

AD4SEQ	HIV-1 Whole Genome	30 rxns	AD-012.030
--------	--------------------	---------	------------