

BovineSNP50 v3 BeadChip

Con 53.218 SNP distanziati uniformemente e posizionati strategicamente sul genoma bovino.

Punti principali

- **Percentuali di identificazione e accuratezza eccellenti**
>99% di identificazione media e 99,9% di riproducibilità
- **Copertura completa e uniforme**
SNP polimorfici distribuiti uniformemente con una spaziatura mediana di 37,4 kb
- **Flusso di lavoro semplificato**
Protocollo senza PCR né ligazione
- **Formato a elevata produttività**
È possibile interrogare in parallelo fino a 24 campioni

Introduzione

In collaborazione con l'Agricultural Research Service (ARS) dello United States Department of Agriculture (USDA), l'Università del Missouri e l'Università dell'Alberta, Illumina ha sviluppato la terza generazione del BovineSNP50 v3 BeadChip (Figura 1). Questo array di genotipizzazione ad alta densità e sull'intero genoma (Tabella 1) presenta 53.218 sonde informative sul polimorfismo a singolo nucleotide (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) che coprono uniformemente l'intero genoma bovino per consentire l'interrogazione della variazione genetica nei bovini. BeadChip consente applicazioni come la selezione abilitata per l'intero genoma, l'identificazione di loci dei tratti quantitativi, la valutazione del merito genetico degli individui e studi genetici comparativi con potere di imputazione nei bovini da carne e da latte.

Utilizzando l'iScan™ System, il software di analisi integrato e il saggio Infinium per lo screening a elevata processività (HTS, High-Throughput Screening), questo BeadChip a 24 campioni fornisce percentuali di identificazione estremamente elevate e consente l'implementazione di contenuto flessibile, nonché il rilevamento e la misurazione della variazione del numero di copie. Inoltre, la preparazione del campione senza PCR e a provetta singola^{3,4} riduce significativamente la manodopera e i potenziali errori di gestione dei campioni.

Contenuto del BovineSNP50 v3 BeadChip

Il contenuto di elevato valore deriva da fonti pubblicamente disponibili come il genoma di riferimento *Bos taurus* (bovino)¹ e Bovine Genome Consortium². Gli scienziati e i collaboratori Illumina hanno sviluppato un microarray di genotipizzazione SNP informativo e ad alta densità che potrebbe essere utilizzato per studiare la variazione genetica in qualsiasi razza bovina. Più di 12.000 sonde sono state progettate per mirare agli SNP comuni convalidati (MAF $\geq 0,05$) descritti dal Bovine HapMap Consortium. Gli sviluppatori di BeadChip hanno inoltre estratto risorse pubblicamente disponibili per SNP comuni, tra cui le letture shotgun di Btau e dell'intero genoma assemblate dai ricercatori presso il Baylor College of Medicine⁵. Ulteriori fonti di contenuto includono i marker di parentela identificati dai ricercatori dello US Meat Animal Research Center e del Clay Center⁶. Il contenuto include anche gli SNP identificati dai ricercatori presso l'ARS USDA attraverso il confronto dei dati della sequenza del cromosoma artificiale batterico (BAC, Bacterial Artificial Chromosome) di Holstein⁷ con il gruppo del genoma bovino (Tabella 2).



Figura 1: BovineSNP50 v3 BeadChip. Il BovineSNP50 v3 BeadChip presenta 53.218 SNP distanziati uniformemente sull'intero genoma bovino.

Tabella 1: informazioni sul prodotto^a

Caratteristica	Descrizione
Specie	<i>Bos taurus</i> (bovino)
Numero totale di marker	53.218
Capacità per tipi di microsferi personalizzati	600.000
Numero di campioni per BeadChip	24
Requisito di input di DNA	200 ng di DNA genomico
Chimica del saggio	Infinium HTS
Supporto strumento	iScan System
Massima processività di campioni dell'iScan System ^a	Circa 5.760 campioni/settimana
Durata scansione per campione	30 minuti

a. I valori approssimativi, la durata delle scansioni e la produttività massima possono variare in base alle configurazioni del laboratorio e del sistema.

Più di 24.000 sonde SNP presenti sui nuovi loci SNP target del BovineSNP50 BeadChip sono state scoperte sequenziando tre popolazioni raggruppate di bovini da carne e da latte economicamente importanti. Gli scienziati e i collaboratori Illumina hanno scoperto oltre 62.000 SNP putativi sequenziando in profondità circa il 2% del genoma *Bos taurus taurus*⁸. Sono stati scelti più di 23.800 SNP derivati da questa nuova fonte di dati in base alla spaziatura, alla frequenza dell'allele minore (MAF, Minor Allele Frequency) prevista e alle prestazioni del saggio HTS Infinium. Inoltre, gli sviluppatori di BeadChip hanno selezionato i loci che mirano ai contig non mappati più grandi per garantire una copertura completa. Tutte le 53.218 sonde SNP sul BovineSNP50 v3 BeadChip sono state convalidate in 19 razze comuni da carne e da latte (Tabella 3).

Il BeadChip mira agli SNP distribuiti uniformemente polimorfici sulle razze testate, fornisce una spaziatura media della sonda di 50,6 kb e una spaziatura mediana di 37,4 kb e presenta una MAF media di 0,25 su tutti i loci. La ricerca attuale sul disequilibrio di legame (LD, Linkage Disequilibrium) in più razze di bovini suggerisce blocchi

di aplotipi di circa 70 kb in media.⁹ Questo indica che la risoluzione offerta da BovineSNP50 v3 BeadChip rientra bene in quella di LD nei bovini. Più di 53.000 sonde SNP sul BovineSNP50 v3 BeadChip mappano su UMD 3.0, il gruppo genoma di riferimento bovino più recente.

Tabella 2: fonti di contenuto per BovineSNP50 BeadChip

Fonte	BovineSNP50 v1 Probes	BovineSNP50 v2 Probes	BovineSNP50 v3 Probes
Nuovi SNP derivati dal sequenziamento di razze bovine comuni utilizzando Illumina GenomeAnalyzer	23.840	24.181	22.299
Set di dati Bovine HapMap	12.298	12.342	11.607
SNP del gruppo Btau	9.361	9.404	9.086
Lecture shotgun per l'intero genoma ^a	5.808	6.038	5.485
Dati di sequenziamento BAC Holstein	1.409	1.411	1.238
Parentela ^b	116	120	200
Altro ^c	1.169	1.113	3.384
Totale	54.001	54.609	53.218

- a. Lecture derivate da 6 mucche/razze (Rossa Norvegese, Frisona, Brahman, Angus, Jersey e Limousine) rispetto a Btau2.0.
- b. Marker di parentela altamente selezionati che includono 30 duplicati.
- c. Include SNP comuni convalidati dall'Institute for Food and Agricultural Sciences dell'Alberta, dall'INRA e dall'Istituto internazionale francese dell'agricoltura.

Dati di elevata qualità

Le 53.218 sonde SNP sul BovineSNP50 v3 BeadChip sono state sottoposte a rigorosi test funzionali per garantire elevate prestazioni utilizzando il saggio Infinium HTS. Gli studi di associazione dell'intero genoma hanno avuto risultati positivi, in parte, grazie agli elevati tassi di identificazione e ai genotipi accuratamente identificati. Poiché i tratti complessi spesso hanno effetti genici relativamente piccoli, le potenziali associazioni potrebbero non essere rilevate se l'SNP sottoposto a saggio nel disequilibrio di legame (LD, Linkage Disequilibrium) con l'SNP di interesse ha un tasso di identificazione basso o un'identificazione errata dei genotipi. Illumina garantisce che ogni BovineSNP50 v3 BeadChip offre un tasso di identificazione superiore al 99% (Tabella 3).

La convalida interna del contenuto sul BovineSNP50 v3 BeadChip utilizzando i campioni forniti dal Bovine HapMap Consortium ha mostrato risultati eccezionali (Tabella 4). Gli sviluppatori dei prodotti hanno identificato e conservato 4.290 loci che sembrano avere una delezione adiacente o sottostante tra le razze sottoposte a campionamento. Questi loci producono tassi di identificazione inferiori rispetto agli altri loci sul pannello. Tuttavia, sono stati conservati perché possono fornire informazioni biologicamente rilevanti per i tratti di interesse e per futuri miglioramenti nel build del genoma.

I risultati della convalida delle prestazioni e dei contenuti mostrano chiaramente l'affidabilità e l'eccellente qualità dei dati forniti da BovineSNP50 v3 BeadChip. Con questo BeadChip, i ricercatori possono prevedere il merito genetico per i fenotipi di interesse e studiare la base genetica della variazione tra una moltitudine di tipi di razze bovine. BovineSNP50 v3 BeadChip dimostra l'impegno di Illumina a fornire strumenti innovativi per le esigenze di ricerca e produzione a supporto del settore del bestiame.

Tabella 3: prestazioni di BovineSNP50 v3 BeadChip

Parametro	Risultati	Specifica del prodotto
Frequenza di identificazione media ^a	99,7%	>99%
Riproducibilità ^b	100%	>99,9%
Inconsistenze mendeliane	0,06%	<0,1%

- a. Basata su 274 individui di 17 razze di bestiame principali, 31 triplette e 1 replicato.
- b. Basata su 4 triplette di Holstein.

Tabella 4: convalida del contenuto del BovineSNP50 v3 BeadChip

Razza	Campioni	Loci polimorfici ^a	MAF media	MAF mediana ^b
Angus	22	41.209	0,22	0,23
Beefmaster	24	43.741	0,23	0,23
<i>Bos indicus</i> Gir	17	25.320	0,11	0,03
<i>Bos indicus</i> Nelore	5	22.422	0,1	0
Brahman	20	33.038	0,13	0,08
Charolais	14	42.685	0,23	0,21
Guernsey	21	37.313	0,2	0,19
Hereford	20	43.902	0,23	0,23
Frisona	22	41.913	0,23	0,23
Jersey	9	36.683	0,18	0,17
Limousine	10	42.732	0,21	0,2
N'Dama	6	29.032	0,14	0,08
Piemontese	21	42.652	0,23	0,24
Red Angus	10	43.028	0,22	0,2
Romagnola	6	38.521	0,2	0,17
Santa Gertrudis	7	42.675	0,21	0,21
Sheko	9	36.582	0,17	0,17
Complessivi	274	47.919	0,26	0,26

- a. Frequenza dell'allele minore (MAF) >0,05
- b. In tutti i 53.218 loci

Soluzioni per la genotipizzazione

Per monitorare i campioni in modo accurato ed efficiente durante l'intero flusso di lavoro, sono disponibili un sistema opzionale di gestione delle informazioni di laboratorio (LIMS, Laboratory Information Management System) e l'automazione robotica. I ricercatori possono genotipizzare i propri campioni utilizzando il software di analisi del DNA Illumina GenomeStudio o il FastTrack Genotyping Service.

Riepilogo

Sviluppato in collaborazione con i principali ricercatori bovini, BovineSNP50 v3 BeadChip dispone di oltre 53.000 sonde SNP distanziate uniformemente che coprono il genoma bovino. Questo BeadChip da 24 campioni rappresenta una soluzione economica e a elevata produttività per gli studi sull'intero genoma in bovini da carne e da latte.

Informazioni per gli ordini

BovineSNP50-24 v3 BeadChip Kit ^a	Descrizione	N. di catalogo
48 samples	Ogni confezione contiene 2 BeadChip, assieme ai reagenti per l'amplificazione, la frammentazione, l'ibridazione, la marcatura e il rilevamento di 48 campioni di DNA	20000766
288 samples	Ogni confezione contiene 12 BeadChip, assieme ai reagenti per l'amplificazione, la frammentazione, l'ibridazione, la marcatura e il rilevamento di 288 campioni di DNA	20000767
1.152 samples	Ogni confezione contiene 48 BeadChip, assieme ai reagenti per l'amplificazione, la frammentazione, l'ibridazione, la marcatura e il rilevamento di 1.152 campioni di DNA	20000768
BovineSNP50-24+ v3 BeadChip Kit ^b	Descrizione	N. di catalogo
48 samples	Ogni confezione contiene 2 BeadChip e consente ai ricercatori di includere fino a 600.000 sonde personalizzate aggiuntive per campione per studi mirati	20000769
288 samples	Ogni confezione contiene 12 BeadChip e consente ai ricercatori di includere fino a 600.000 sonde personalizzate aggiuntive per campione per studi mirati	20000830
1.152 samples	Ogni confezione contiene 48 BeadChip e consente ai ricercatori di includere fino a 600.000 sonde personalizzate aggiuntive per campione per studi mirati	20000831

a. Ogni BeadChip è in grado di elaborare 24 campioni e analizzare circa 53.000 loci.
b. Abilitato per contenuto personalizzato.

Maggiori informazioni

Ulteriori informazioni su BovineSNP50-24 v3.0 BeadChip sono disponibili alla pagina www.illumina.com/products/by-type/microarray-kits/bovine-snp50.html.

Bibliografia

1. Ensembl Genome Browser. uswest.ensembl.org/Bos_taurus/Info/Index. Consultato il 2 giugno 2020.
2. The Bovine Genome Consortia. bovinegenome.elsiklab.missouri.edu/bovine_genome_consortium. Consultato il 2 giugno 2020.
3. Gunderson KL, Steemers FJ, Lee G, Mendoza LG, Chee MS (2005) A genome-wide scalable SNP genotyping assay using microarray technology. *Genet* 37(5): 549–554.
4. Steemers FJ, Weihua Chang W, Lee G, Barker DL, Shen R, et al. (2006) Whole-genome genotyping with the single-base extension assay. *Nat Methods* 3(1): 31–33.
5. <ftp://ftp.hgsc.bcm.tmc.edu/pub/data/Btaurus/snp/Btau20070913/README>
6. Heaton MP, Keen JE, Clawson ML, Harhay GP, Bauer N, et al. (2005) Use of bovine single nucleotide polymorphism markers to verify sample tracking in beef processing. *J Am Vet Med Assoc* 226(8): 1311–1314.
7. Matukumalli LK, Taylor JF, and Van Tassel CP. Personal communication.
8. Van Tassel CP, Smith TPL, Matukumalli LK, Taylor JF, Schnabel, RD, et al. (2008) Simultaneous SNP discovery and allele frequency estimation by high-throughput sequencing of reduced representation libraries. *Nat Meth* (accepted).
9. Khatkar MS, Zenger KR, Hobbs M, Hawken RJ, Cavanagh JAL, et al. (2007) A Primary Assembly of a Bovine Haplotype Block Map Based on a 15,036-Single-Nucleotide Polymorphism Panel Genotyped in Holstein-Friesian Cattle. *Genetics* 176(2): 763–772.

illumina • Numero verde 1.800.809.4566 (USA) • Tel. +1.858.202.4566 • techsupport@illumina.com
• www.illumina.com

© 2020 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. 370-2007-029-B ITA QB#

illumina[®]