

# Viral Surveillance Panel v2

简化全基因组测序，用于高风险病毒监测和研究

- 扩展试剂盒可覆盖约200种病毒，包括与公共卫生相关的病毒<sup>1-6</sup>
- 杂交捕获富集法适用于RNA和DNA病毒病原体
- 集成工作流程支持多种宿主和环境样本类型<sup>7</sup>

## 为公共卫生监测确定高影响病毒

病毒基因组学监测为病原体的进化、传播和行为提供了宝贵的信息，在全球健康安全方面发挥着举足轻重的作用<sup>1</sup>。利用新一代测序技术（NGS）分析病毒的基因构成，科学家们可以追踪可能影响传播性、毒性或抗药性的突变<sup>8</sup>。这些信息对于设计有效的诊断测试、治疗方法和疫苗以应对新出现的传染病至关重要。

Illumina Viral Surveillance Panel v2是一种NGS试剂盒，可检测约200种病毒并对其进行全基因组测序（WGS）（完整列表可点击[此处](#)查看），其中包括被确定为对公共卫生构成重要风险的病毒<sup>1-6</sup>（表1）。该试剂盒使用杂交捕获靶向富集工作流程，可以对各种样本类型进行测序，无需鸟枪法宏基因组学测序所需的高测序深度。与其他靶向重测序方法（如扩增子测序）相比，杂交捕获法提供了更均一的病毒基因组覆盖度、更强的突变和相关序列识别能力，因此Viral Surveillance Panel v2是疫情监测和变异监测的理想选择。

## 简化的NGS工作流程

Viral Surveillance Panel v2工作流程可从一系列样本类型中富集病毒基因组，包括废水、血清、血浆、皮肤病变和鼻咽拭子<sup>7</sup>。从宿主或环境样本中提取的RNA或DNA制备文库，在因美纳桌面式基因测序仪上测序，并使用BaseSpace™ Sequence Hub上提供的DRAGEN™ Microbial Enrichment Plus App进行分析。文库制备和测序步骤可在两天内完成，只需极少的手动操作时间<sup>7</sup>（图1）。

### 文库制备

Viral Surveillance Panel v2文库制备工作流程包括预富集和富集步骤。预富集可生成数十万个非靶向文库，这些文库以杂交捕获法通过Viral Surveillance Panel v2探针实现富集。基于磁珠的转座酶片段化富集方法提供了一种快速、可兼容自动化的工作流程，可在两天内完成且手动操作时间非常少。该方案适用于10 ng至100 ng总核酸的样本起始量，并支持在一次运行中多重分析多达384个样本。



图1: Viral Surveillance Panel v2工作流程——全面的一体化工作流程，利用环境或宿主样本制备文库，在因美纳基因测序仪上测序，并使用DRAGEN Microbial Enrichment Plus App进行分析，从而实现病毒检测、全基因组共有序列生成、最佳匹配病毒的序列定位和毒株分型。测序时间因样本测序深度和所使用的基因测序仪而异。

表1: Viral Surveillance Panel v2所包含的高风险病毒

腺相关病毒2型	人腺病毒A-G型	马亚罗病毒	萨比亚病毒
爱知病毒1型	人博卡病毒	麻疹病毒	萨利病毒A型
艾盖病毒	人冠状病毒	梅那哥病毒	白蛉热西西里病毒
邦巴利病毒	人巨细胞病毒	中东呼吸综合征相关冠状病毒	札幌病毒
波本病毒	人类免疫缺陷病毒1/2型	猴痘病毒	严重急性呼吸综合征相关冠状病毒
卡什谷病毒	人类偏肺病毒	腮腺炎病毒	严重急性呼吸综合征相关冠状病毒2型
加利福尼亚脑炎病毒	人乳头瘤病毒	墨累谷脑炎病毒	塞姆利基森林病毒
查帕雷病毒	人副流感病毒1-4型	尼帕病毒	严重发热伴血小板减少综合征病毒
基孔肯雅病毒	人双埃柯病毒	诺如病毒	辛德毕斯病毒
科罗拉多蜱热病毒	人鼻病毒B19型	鄂木斯克出血热病毒	雪鞋野兔病毒
柯萨奇病毒A/B型	甲型-丙型流感病毒	尼昂-尼昂病毒	索苏加病毒
克里米亚-刚果出血热病毒	詹姆斯敦峡谷病毒	奥罗波克病毒	圣路易斯脑炎病毒
登革热病毒1-4型	日本脑炎病毒	脊髓灰质炎病毒	塔城蜱病毒2型
埃博拉病毒	鸠宁病毒	多瘤病毒	塔希纳病毒
艾柯病毒	科萨努尔森林病毒	波瓦桑病毒	蜱传脑炎病毒
肠道病毒A-D型	拉克罗斯病毒	蓬塔托罗病毒	细环病毒
EB病毒	拉沙病毒	狂犬病毒	托斯卡纳病毒
马脑炎病毒	洛维乌病毒	拉夫病毒	乌苏图病毒
瓜纳里托病毒	卢约病毒	呼吸道合胞病毒A型/B型	水痘-带状疱疹病毒
汉坦病毒	淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒	鼻病毒A-C型	天花病毒
哈特兰病毒	丽沙病毒	裂谷热病毒	西尼罗河病毒
亨尼巴病毒	马丘波病毒	罗斯河病毒	黄热病毒
肝病毒A-E型	哺乳动物星状病毒	轮状病毒A/B/C/H型	寨卡病毒
人单纯疱疹病毒1/2型	马尔堡病毒	风疹病毒	

## 测序

使用Viral Surveillance Panel v2富集的文库测序深度要求较低，因此可选择多种基因测序仪，包括桌面式MiniSeq™、MiSeq™、NextSeq™ 550、NextSeq 1000/2000系列基因测序仪。病毒滴度、核酸样本质量、样本测序深度和每个样本的序列数都会影响获得的病毒特异性序列数和序列覆盖度。对于高质量样本，一般建议的测序读取深度为每个样本至少输出2M总序列，读长为2×150 bp。推荐的样本测序深度因样本类型而异。对于更复杂的样本（如废水），建议每个样本至少输出8M总序列。如果存在其他微生物核酸，如复杂样本类型中发现的细菌，则预计会出现大量脱靶序列。

## 数据分析

使用Viral Surveillance Panel v2生成的数据通过BaseSpace Sequence Hub上的DRAGEN Microbial Enrichment Plus App进行分析。这一简单易用的分析流程提供了样本质量控制、与广泛的精选病毒基因组数据库进行参考比对、变异检出、病毒基因组共有序列生成、甲型/乙型流感病毒的抗病毒耐药性预测、灵活的报告选项，以及与Pangolin和Nextclade的集成，以便为支持的病毒实现进一步的系统发育归类。

## 性能

### 靶向富集

鸟枪法宏基因组测序是对所有RNA/DNA进行测序，与其相比，Viral Surveillance Panel v2使用的靶向杂交捕获法大幅减少了对宿主和非目标微生物的不必要的测序，降低了测序成本，能够在桌面式基因测序仪上对病毒基因组进行广泛测序<sup>7</sup>。

为了评估Viral Surveillance Panel v2的性能，在高度人类RNA (10 ng) 和DNA (10 ng) 背景下，以不同拷贝数制备了多靶标病毒样本（表2）。

将使用Viral Surveillance Panel v2富集回收的病毒基因组与未进行富集的鸟枪法宏基因组测序结果进行比较。与鸟枪法宏基因组学测序相比，Viral Surveillance Panel v2从多靶标设计样本中获得的病毒基因组回收率更高（图2）。使用Viral Surveillance Panel v2方法，在6次重复实验中平均回收了99.1%的人腺病毒E型基因组和99.4%的甲型流感病毒（H3N2）基因组，每次反应回收1,000个基因组拷贝（图2A、2C）。在病毒滴度相同的情况下，鸟枪法宏基因组学测序的基因组覆盖率要低得多。在每次反应1,000个基因组拷贝的重复实验中，平均仅回收了1.9%的人腺病毒E型基因组和0%的甲型流感病毒（H3N2）基因组（图2B、2D）。

表2: 用于评估Viral Surveillance Panel v2性能的定量病毒对照材料

参考毒株	病毒对照材料	供应商	货号
人腺病毒4型RI-67株	定量基因组DNA	ATCC	VR-1572DG
甲型流感病毒（H3N2）A型/Wisconsin/15/2009	定量基因组RNA	ATCC	VR-1882DQ

### 临床残留样本

灵活的Viral Surveillance Panel v2工作流程适用于从多种临床样本类型（包括血浆、血清、皮肤病变和鼻咽拭子）中提取的RNA、DNA和总核酸。通过降低宿主序列的测序比例和富集靶标病毒序列，Viral Surveillance Panel v2提高了病毒基因组覆盖度和中位覆盖深度。使用预先鉴定出病毒的临床残留样本评估Viral Surveillance Panel v2的性能（表3）。与鸟枪法宏基因组学测序相比，所有使用Viral Surveillance Panel v2富集的临床残留样本在针对不同病毒（人类免疫缺陷病毒1除外）和样本类型的分析中均显示出更高的病毒检测灵敏度（图3）。

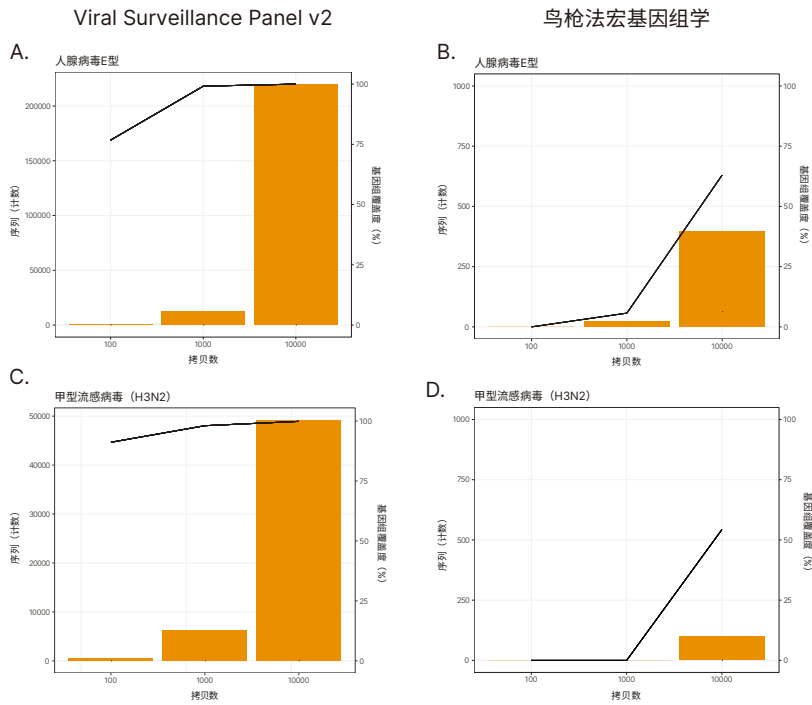


图2: 使用Viral Surveillance Panel v2获得的序列计数和病毒基因组覆盖度——使用市售的多靶标定量设计样本, 比较Viral Surveillance Panel v2和无富集鸟枪法测序的性能。(A) 经Viral Surveillance Panel v2富集的人腺病毒4型 (RI-67株), (B) 经鸟枪法宏基因组学测序且未富集的人腺病毒4型 (RI-67株), (C) 经Viral Surveillance Panel v2富集的甲型流感病毒 (H3N2), (D) 经鸟枪法宏基因组学测序且未富集的甲型流感病毒 (H3N2)。在配备高通量流动槽的NextSeq 550基因测序仪上以1000拷贝/反应水平对每个制备样本进行6次重复测序。测序数据被归一化为2M总序列。

表3: 用于评估Viral Surveillance Panel v2性能的临床残留样本

预先确定的病毒	样本类型	提取试剂盒	样本起始量
人单纯疱疹病毒1型	皮肤病变	ZymoBIOMICS DNA/RNA Miniprep	总核酸
人单纯疱疹病毒2型	皮肤病变	ZymoBIOMICS DNA/RNA Miniprep	总核酸
人类免疫缺陷病毒1型	血浆/血清	MagMAX Microbiome UltraNucleic Acid Isolation Kit	DNA、RNA
登革热病毒	血清	QIAmp Viral RNA Kit	RNA
人类呼吸道合胞病毒A型	鼻咽拭子	QIAmp Viral RNA Kit	RNA
甲型流感病毒 (H3N2)	鼻咽拭子	QIAmp Viral RNA Kit	RNA

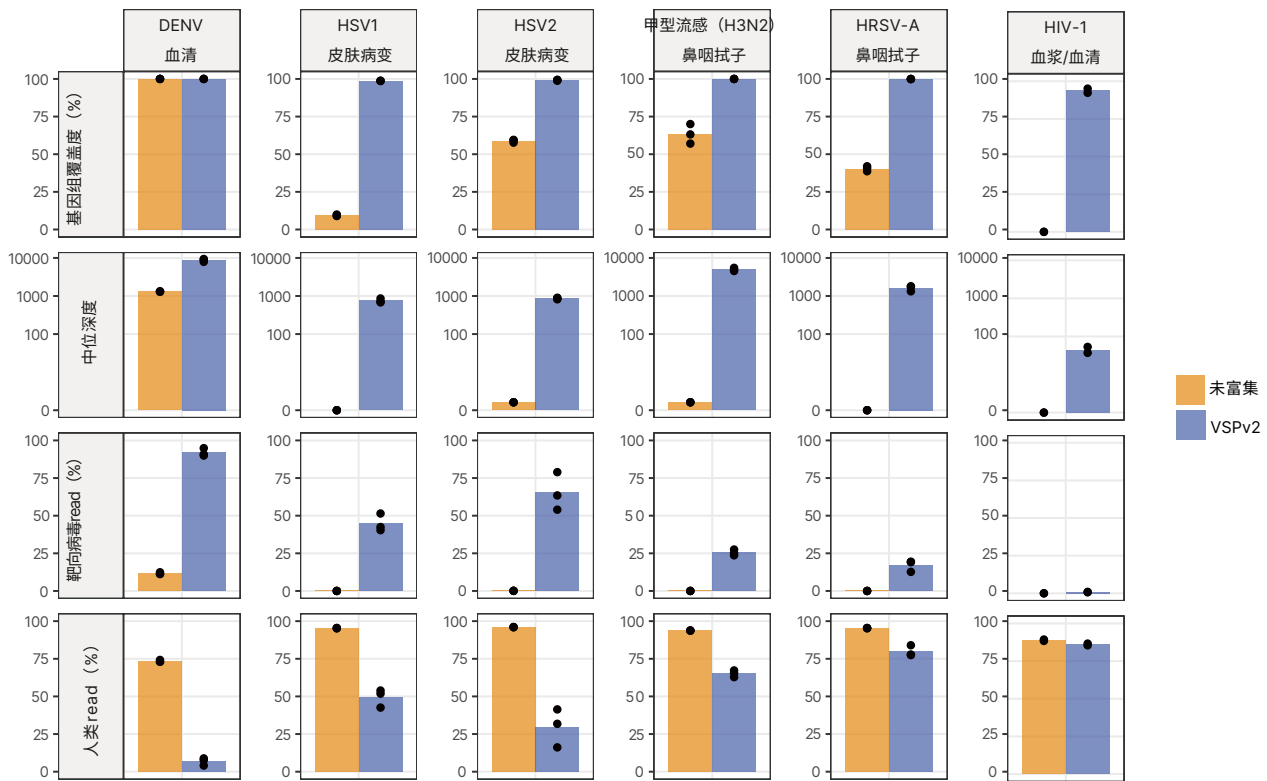


图3: Viral Surveillance Panel v2在临床残留样本中的性能——图中显示了Viral Surveillance Panel v2或鸟枪法宏基因组学测序的基因组覆盖度、靶向病毒序列、中位深度和人类序列百分比。在配备高通量流动槽的NextSeq 550基因测序仪上对来自6个临床样本的2或3个重复样本进行测序。测序数据被归一化为1M总序列。DENV, 登革热病毒; HSV1, 单纯疱疹病毒1型; HSV2, 单纯疱疹病毒2型; Flu A, 甲型流感; HRSV-A, 人类呼吸道合胞病毒A型; HIV-1, 人类免疫缺陷病毒; NP, 鼻咽; VSPv2, Viral Surveillance Panel v2。

### 废水监测

监测废水中的病毒序列提供了病毒病原体公共传播的区域指标，为公共卫生专业人员制定应对计划提供了宝贵的信息<sup>9</sup>。Viral Surveillance Panel可用于分析这些样本，以便及早检测和鉴定废水中浓度低于鸟枪法测序范围的病毒基因组（表4）。

我们与威斯康星州卫生实验室（WSLH）和科罗拉多州立大学（CSU）合作，收集并提取了两个采集点的废水样本。对每个采集点的3个样本进行了评估。针对使用这6个废水样本制备的文

库进行了测序，并归一化为8M总序列（用于Viral Surveillance Panel v2富集），或8M和25M总序列（用于鸟枪法宏基因组学测序）。由于废水样本的复杂程度差异很大，可能含有数十种低丰度病毒，因此本次比较使用的测序深度为8M总序列。与鸟枪法宏基因组学测序相比，Viral Surveillance Panel v2在病毒载量总体较低的复杂环境样本中表现出更高的病毒检测灵敏度，即使鸟枪法宏基因组学测序的总序列增加了约6倍（表4）。

表4：以高准确度检测低频变异

病毒（毒株）	8M 总序列				25M 总序列	
	Viral Surveillance Panel v2		鸟枪法宏基因组学		鸟枪法宏基因组学	
	基因组覆盖度 (%)	序列计数	基因组覆盖度 (%)	序列计数	基因组覆盖度 (%)	序列计数
札幌病毒 (Gii.1)	99.7	219539	50.0	57	84.2	360
人腺病毒F型 (人腺病毒41型)	100	104693	6.4	18	23.6	72
人冠状病毒Oc43 (HcoV_Oc43)	98.1	23857	0	0	10.0	26
札幌病毒 (GV)	99.6	10750	0	0	25.3	19
人腺病毒E型	88.4	6733	0	0	0	0
JC多瘤病毒 (JCPyV)	99.3	5834	0	0	0	0
哺乳动物星状病毒9型 (MastV9)	99.2	4959	0	0	0	0
哺乳动物星状病毒1型 (MastV1)	98.6	3972	7.5	5	22.0	13
人腺病毒A型 (人腺病毒31型)	81.1	3449	0	0	0	0
哺乳动物星状病毒6型 (MastV6) [MLB1]	97.2	3181	0	0	17.3	9
诺如病毒 (G1)	96.9	1972	0	0	0	0
BK多瘤病毒 (BKPyV)	100	1522	0	0	11.1	4
哺乳动物星状病毒8型 (MastV8) [Va2]	92.1	1208	0	0	6.1	4
人乳头瘤病毒59型 (HPV59; 高风险)	69.3	1015	0	0	0	0
肠道病毒A型 (非柯萨奇病毒) [肠道病毒a71型]	70.0	295	5.1	4	9.0	6

## 总结

在用于检测病毒爆发、监测人畜共患病和追踪变异的优化、全面的工作流程中，Viral Surveillance Panel v2是重要组成部分。该试剂盒包括杂交捕获探针，可用于识别约200种被指定为公共卫生高危病毒的RNA和DNA病毒基因组。杂交捕获靶向富集法通过聚焦目标序列，大幅减少了对高样本测序深度的需求，从而在提高通量的同时降低了成本。简化的工作流程与一系列样本类型和应用兼容，包括通过监测临床样本和废水以确定该区域是否存在病毒。使用Viral Surveillance Panel v2生成的数据可通过BaseSpace Sequence Hub上用户友好的DRAGEN Microbial Enrichment Plus App进行分析。这种强大的NGS工作流程提供了出色的病毒捕获性能，可用于识别复杂样本中的DNA和RNA，为公共卫生组织和研究人员提供了一种鸟枪法测序的先进替代方案。

## 了解更多

[Viral Surveillance Panel v2](#)

[DRAGEN Microbial Enrichment Analysis Plus App](#)

[因美纳基因测序仪](#)

## 订购信息

产品	货号
Illumina Viral Surveillance Panel v2 Kit, Set A (96样本)	20108081
Illumina Viral Surveillance Panel v2 Kit, Set B (96样本)	20108082
Illumina Viral Surveillance Panel v2 Kit, Set C (96样本)	20108083
Illumina Viral Surveillance Panel v2 Kit, Set D (96样本)	20108084
Illumina Viral Surveillance Panel v2, 仅包含Panel (96样本)	20123403

## 参考文献

- Ling-Hu T, Rios-Guzman E, Lorenzo-Redondo R, Ozer EA, Hultquist JF. [Challenges and Opportunities for Global Genomic Surveillance Strategies in the COVID-19 Era](#). *Viruses*. 2022;14(11):2532. doi:10.3390/v14112532.
- World Health Organization. [Pathogens prioritization: a scientific framework for epidemic and pandemic research preparedness](#). [who.int/publications/m/item/pathogens-prioritization-a-scientific-framework-for-epidemic-and-pandemic-research-preparedness](#). Published July 30, 2024. Accessed August 9, 2024.
- World Health Organization. [Prioritizing diseases for research and development in emergency contexts](#). [who.int/activities/prioritizing-diseases-for-research-and-development-in-emergency-contexts](#). Accessed August 9, 2024.
- Bloom DE, Cadarette D. [Infectious Disease Threats in the Twenty-First Century: Strengthening the Global Response](#). *Front Immunol*. 2019;10:549. doi:10.3389/fimmu.2019.00549.
- World Health Organization. [Disease Outbreak News](#). [who.int/emergencies/disease-outbreak-news](#). Updated July 31, 2024. Accessed August 9, 2024.

6. Africa Centers for Disease Control and Prevention. Diseases information. [africacdc.org/disease/](https://africacdc.org/disease/). Accessed August 9, 2024.
7. Data on file. Illumina, Inc. 2024.
8. Thakur S, Sasi S, Pillai SG, et al. [SARS-CoV-2 Mutations and Their Impact on Diagnostics, Therapeutics and Vaccines](#). *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:815389. doi:10.3389/fmed.2022.815389
9. Diamond MB, Keshaviah A, Bento AI, et al. [Wastewater surveillance of pathogens can inform public health responses](#). *Nat Med*. 2022;28(10):1992-1995. doi:10.1038/s41591-022-01940-x.

## 因美纳中国

上海办公室 • 电话 (021) 6032-1066 • 传真 (021) 6090-6279  
北京办公室 • 电话 (010) 8441-6900 • 传真 (010) 8455-4855  
技术支持热线 400-066-5835 • [chinasupport@illumina.com](mailto:chinasupport@illumina.com)  
市场销售热线 400-066-5875 • [china\\_info@illumina.com](mailto:china_info@illumina.com) • [www.illumina.com.cn](http://www.illumina.com.cn)

© 2024 Illumina, Inc. 保留所有权利。所有商标均为因美纳公司或其各自所有者的财产。  
关于具体的商标信息，请访问[www.illumina.com.cn/company/legal.html](http://www.illumina.com.cn/company/legal.html)。  
M-GL-02882 v1.0



**illumina**<sup>®</sup>