

快速识别养殖基地的不明微生物

华大智造微生物测序组合产品

亮点



全面并持续更新的数据库

集成27830种微生物完整基因组的数据库，包含病毒、真菌、古菌、细菌和寄生虫



快速识别周期短

无需病毒分离和细胞培养，无需经验预判



系统兼容性高

开放的系统，支持第三方试剂盒及分析软件

背景

羊口疮病毒在全球范围内流行，在养羊国家中分布尤为广泛，在我国新疆、青海、内蒙古等养羊较为集中的地区均有羊口疮病的发生，给羊养殖业带来巨大的损失^[1,2]。传统的检测方法主要是采用PCR检测技术，由于引物种类和数量的限制，检测的微生物体种类较少，可能会造成漏诊或误诊，且无法识别未知微生物和新型微生物。

某养殖基地的多只青山羊发生了不明病原的感染，主要症状为口唇出现脓包并结痂。为迅速控制疫情，该养殖基地将几只病情较严重病羊的拭子样本采用华大智造微生物组合产品进行识别，两天内得到结果。本文简要介绍华大智造微生物测序组合产品快速识别该养殖基地不明病原的工作流程及数据结果。

方法

文库制备

分别使用MGIEasy酶切DNA文库制备试剂盒套装（16RXN，货号1000006987）和 MGIEasy RNA文库制备试剂套装（16RXN，货号1000006383）对提取的青山羊DNA和RNA进行建库，并制备DNB。同时，MGI也提供自动化样本制备系统MGISP-100（货号900-000070-00），可替代人工完成核酸提取、PCR反应、文库构建等一系列实验操作。

测序

基于MGISEQ-200RS（货号 900-000350-00）（图1）高通量测序平台，对DNA和RNA均进行SE100测序，单端测序能够有效识别病毒，并缩短时间。除此之外，MGI也提供更高通量的MGISEQ-2000（货号 900-000035-00）和DNBSEQ-T7（货号 900-000236-00）测序平台，为微生物识别提供了快速灵活的测序方法。

数据处理

使用华大智造自主研发的微生物快速识别平台（PFI，货号900-000392-00）与自主构建的集成27830种微生物完整基因组的数据库进行比对，其中包含病毒、真菌、古菌、细菌和寄生虫等类型参考序列（表1）。

获得微生物识别结果后，研究者可通过公共第三方开源组装软件（如SPAdes，IDBA，ABYSS），根据确定的微生物序列，组装成病毒全基因组。同时，MGI也为客户提供微生物快速识别与组装溯源平台（PFI，货号900-000398-00），为病原的序列组装和溯源提供了简单高效的分析方法。



图1 MGISEQ-200RS高通量测序平台

表1 微生物数据库

微生物分类	种水平数目	属水平数目
细菌	8335	1925
古生菌	361	130
真菌	9461	2606
病毒	9031	1050
寄生虫	642	361

结果

Orf_virus病毒的识别

测序后，MGISEQ-200共产出8.1 Gb的数据量，结合PFI软件比对结果，识别出138, 492条羊口疮病毒reads（表2）。

表2 病原PFI处理结果

序号	物种（种）	reads数	相对丰度%
1	Orf_virus	138,492	15.487
2	Pseudocowpox virus	10694	1.196
3	Bovine papular stomatitis virus	497	0.056
4	Parapoxvirus of red deer in New Zealand	461	0.052
5	Seal parapoxvirus	76	0.009
6	Staphylococcus virus EW	56	0.007
7	Jaagsiekte sheep retrovirus	41	0.005
8	Enzootic nasal tumour virus of goats	35	0.004
9	Klebsiella virus Matisse	14	0.002
10	Klebsiella virus KP27	11	0.001

Orf_virus 病毒的组装及验证

将比对到的羊口疮病毒的reads进行组装，得到全长122.9 kb，GC含量为64.57%的病毒基因组序列，结果与羊口疮病毒（长度为135 kb）的比对率高达86.7%（图2），平均覆盖度高达87.6%（图3）。

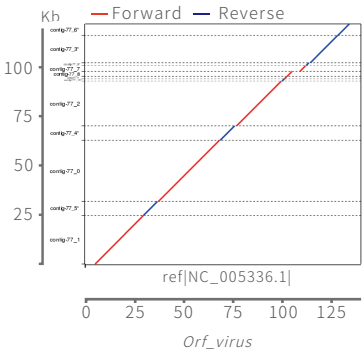


图2 组装序列与病毒基因组比对线性图

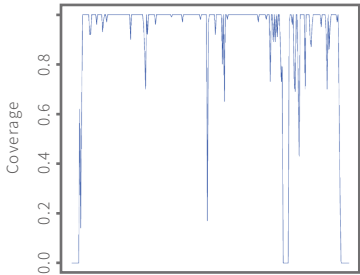


图3 病毒基因组平均覆盖度

最后，通过PCR的方法对感染的山羊进行验证，均识别出了羊口疮病毒（Orf_virus），进一步说明华大智造微生物产品组合数据处理结果的准确性，为疫情控制提供了重要信息。

参考文献

1. Hosamani M, Scagliarini A, Bhanuprakash V, et al. Orf: an update on current research and future perspectives. Expert review of anti-infective therapy, 2009,7(7):879-893.
2. Zhao K, Song D, He W, et al. Identification and phylogenetic analysis of an Orf virus isolated from an outbreak in sheep in the Jilin province of China. Veterinary microbiology, 2010,142(3-4):408-415.



华大智造

微生物测序组合产品

MGI Microorganism Sequencing Package

■ 订购信息

设备	
产品	货号
自动化样本制备系统MGISP-100RS	900-000070-00
基因测序仪MGISEQ-200RS	900-000350-00
基因测序仪MGISEQ-2000RS	900-000035-00
基因测序仪DNBSEQ-T7RS	900-000236-00

试剂	
产品	货号
MGIEasy 微生物快速DNA文库制备套装	(16RXN, 940-000109-00; 96RXN, 940-000110-00)
MGIEasy 微生物快速RNA文库制备套装	(16RXN, 940-000107-00; 96RXN, 940-000108-00)
MGISEQ-200RS高通量快速测序试剂套装 (FCS SE100)	1000019845
MGISEQ-200RS高通量测序试剂套装 (FCL PE100)	1000019844

软件	
产品	货号
微生物快速识别平台 (PFI, 工作站)	900-000392-00
微生物快速识别平台与组装溯源平台 (PFI, 主流程)	900-000398-00

