

Viral Surveillance Panel

하이브리드 캡처
인리치먼트를 통해 간소화되는
고위험 바이러스의
전장 유전체 시퀀싱 워크플로우

- 공중 보건에 큰 위험을 초래할 수 있는 것으로 확인된 66개의 바이러스에 대한 커버리지 제공
- 표적화된 RNA 및 DNA 바이러스 병원체 인리치먼트
- 다양한 종류의 숙주 및 환경 샘플 지원

illumina®

연구 전용입니다. 진단 절차에는 사용할 수 없습니다.

공중 보건에 위협이 되는 바이러스의 모니터링

2019년 SARS-CoV-2의 출현과 2022년 monkeypox virus(원숭이두창 바이러스)의 출현으로 인해 병원체 조기 경보 시스템과 바이러스 출현을 모니터링 및 연구하는 도구의 필요성이 대두되었습니다. 차세대 시퀀싱(next-generation sequencing, NGS)은 연구자가 감염체(infectious agent)에 대한 사전 지식 없이도 효과적으로 샘플 선별과 바이러스 검출을 수행할 수 있도록 해 줍니다. NGS가 제공하는 상세한 정보는 다음과 같이 중요한 특징의 파악과 모니터링 활동에 활용할 수 있습니다.

- 바이러스 출현 기간 동안 알려진 양성 샘플의 재귀적(reflexive) 시퀀싱
- 감염원 및 감염 경로 추적
- 바이러스 진화 및 항바이러스 내성의 모니터링

Viral Surveillance Panel은 NGS를 통해 세계보건기구(World Health Organization, WHO)가 공중 보건에 중대한 위협을 초래하는 것으로 확인한 바이러스를 포함하여 66개의 바이러스 유전체를 검출할 수 있습니다(표 1).¹ 이 패널은 샷건 메타노지노믹스(shotgun metagenomics) 시퀀싱이 요구하는 높은 샘플 리드 깊이(read depth) 조건을 적용하지 않고도 다양한 종류의 샘플을 시퀀싱할 수 있게 해주는 하이브리드 캡처 표적 인리치먼트(hybrid-capture target enrichment) 워크플로우를 사용합니다. 하이브리드 캡처는 앰플리콘(amplicon) 시퀀싱과 같은 여타 표적 재시퀀싱(targeted resequencing) 방법과 비교했을 때 여러 유전체(genome)에 걸쳐 보다 균일한 커버리지(coverage), 현저히 큰 프로브(probe) 패널 그리고 더 향상된 돌연변이 및 관련 시퀀스(sequence) 검출 능력을 제공합니다. 따라서 Viral Surveillance Panel은 바이러스 출현 감시에 적합한 제품이라 할 수 있습니다.

포괄적인 통합형 NGS 워크플로우

Viral Surveillance Panel 워크플로우는 하수(wastewater)를 비롯한 다양한 숙주(host) 및 환경 샘플에서 얻은 바이러스 유전체의 인리치먼트에 활용됩니다.² 벤치탑 시퀀싱 시스템을 사용하면 이를 안에 라이브러리 준비(library preparation) 및 시퀀싱 단계를 완료할 수 있습니다(그림 1).

표 1: Viral Surveillance Panel에 포함되어 있는 바이러스¹

Adenovirus	Hepatitis B virus	Parechovirus
Aichivirus	Hepatitis C virus	Parvovirus
Astrovirus	Hepatitis E virus	Poliovirus
Chapare virus	Human Immunodeficiency Virus 1	Polyomavirus
Chikungunya virus	Human Immunodeficiency Virus 2	Respiratory syncytial virus
Coronavirus-229E	Influenza A virus	Rhinovirus
Coronavirus-HKU1	Influenza B virus	Rift Valley fever virus
Coronavirus-OC43	Japanese encephalitis virus	Rotavirus
Coronavirus-NL63	Junin virus	Rubella virus
Coxsackievirus	Kyasanur Forest disease virus	Sabia virus
Crimean-congo haemorrhagic fever virus	Lassa fever virus	Salivirus
Dengue virus 1	Lujo hemorrhagic fever virus	Sapovirus
Dengue virus 2	Machupo virus	SARS-CoV
virus	Marburg virus	SARS-CoV-2
Dengue virus 4	MERS-CoV	Tick-borne encephalitis virus
Eastern equine encephalitis virus	Metapneumovirus	Torque Teno virus
Ebola virus	Monkeypox virus	Variola virus
Enterovirus	Nipah virus	Venezuelan equine encephalitis virus
Guanarito virus	Norovirus	West Nile virus
Hantavirus	Omsk hemorrhagic fever virus	Western equine encephalitis virus
Hendra henipavirus	Oncolytic human papillomavirus	Yellow fever virus
Hepatitis A virus	Parainfluenza virus	Zika virus



그림 1: Viral Surveillance Panel 워크플로우 — 환경 또는 숙주 샘플을 이용해 라이브러리를 준비한 후, 원하는 Illumina의 시퀀싱 시스템으로 시퀀싱한 다음, 바이러스 검출, 전장 유전체 공통 시퀀스(consensus sequence) 생성, 바이러스 최고 히트에 대한 리드 매핑(read mapping to viral best hits) 및 균주 형별 분류(strain typing)를 위해 BaseSpace Microbial Enrichment 파이프라인으로 시퀀싱 데이터를 분석하는 간소화된 포괄적인 워크플로우. 시퀀싱 소요 시간은 샘플 리드 덱스 및 선택한 시퀀싱 시스템에 따라 상이함.

라이브러리 준비

Viral Surveillance Panel은 Illumina [Respiratory Virus Oligo Panel](#)과 동일한 라이브러리 준비 프로토콜을 따릅니다.³ Illumina RNA Prep with Enrichment는 신속한 인리치된 라이브러리 생성 워크플로우를 제공하기 위해 온비드 태그멘테이션(on-bead tagmentation) 단계와 1회의 하이브리드화(hybridization) 단계를 포함합니다. Illumina RNA Prep with Enrichment는 다음과 같은 이점을 제공합니다.

- 최소한의 수작업 시간만을 요하고 약 이틀 안에 완료할 수 있는 신속한 자동화 지원 워크플로우
- 유연한 샘플 사용량 옵션(전체 핵산(total nucleic acid) 10~100 ng 사용 가능)
- 1회의 런으로 최대 384개 샘플의 멀티플렉싱(multiplexing)을 지원하는 확장 가능한 처리량

시퀀싱

VSP 인리치먼트를 거친 라이브러리는 비교적 낮은 리드 덱스를 요하므로 연구자는 벤치탑 기기인 MiniSeq™, MiSeq™, NextSeq™ 550, NextSeq 1000, NextSeq 2000 시스템 등 다양한 시퀀싱 시스템을 선택해 사용할 수 있습니다. 바이러스 역가(titer), 핵산 샘플 품질, 샘플 리드 덱스, 샘플당 리드 수는 생성된 바이러스 특이적 리드의 수와 시퀀스 커버리지에 영향을 줍니다. 일반적으로 양질의 샘플의 경우 권장되는 시퀀싱 리드 덱스는 샘플당 최소 2M 개의 페어드 엔드 리드(paired-end read)이며, 리드 길이(read length)는 149 bp가 권장됩니다. 권장되는 샘플 리드 덱스는 샘플의 종류에 따라서도 달라집니다. 하수와 같이 더 복잡한 샘플을 사용할 때는 샘플당 최소 4M 개의 페어드 엔드 리드가 권장됩니다.

데이터 분석

Viral Surveillance Panel은 [BaseSpace™ Sequence Hub](#)에서 제공되는 Microbial Enrichment 2차 분석 파이프라인과 호환이 가능합니다. Microbial Enrichment 파이프라인은 패널에 포함되어 있는 바이러스 유전체에 대한 콘티그 어셈블리(contig assembly), 공통 시퀀스 및 유전체 커버리지를 제공합니다.

성능

표적 인리치먼트

Viral Surveillance Panel의 하이브리드 캡처 표적 인리치먼트 단계에는 Illumina RNA Prep with Enrichment Kit가 사용됩니다. 모든 RNA/DNA를 시퀀싱하는 샷건 메타지노믹스 시퀀싱과는 달리, 표적화된 하이브리드 캡처 방식은 불필요한 숙주와 표적화되지 않은 미생물의 시퀀싱을 줄임으로써 비용을 절감시켜 줄 뿐만 아니라 벤치탑 시퀀싱 시스템으로도 광범위한 바이러스 유전체 시퀀싱을 수행할 수 있도록 해 줍니다(그림 2).

또한 동시에 다양한 바이러스의 전장 유전체 시퀀싱(whole-genome sequencing, WGS)을 수행하므로 바이러스 감시와 바이러스의 진화 분석에 활용이 가능합니다. Viral Surveillance Panel에 포함된 표적 인리치먼트 프로브(probe)는 전체 바이러스 유전체에 대한 균일한 커버리지를 제공합니다(그림 3). 또 하이브리드 캡처 프로토콜에 사용되는 올리고(oligo) 프로브는 돌연변이 영역 내에서 효과가 유지되기 때문에 RNA 바이러스와 같이 빠르게 진화하는 바이러스도 포획할 수 있습니다.

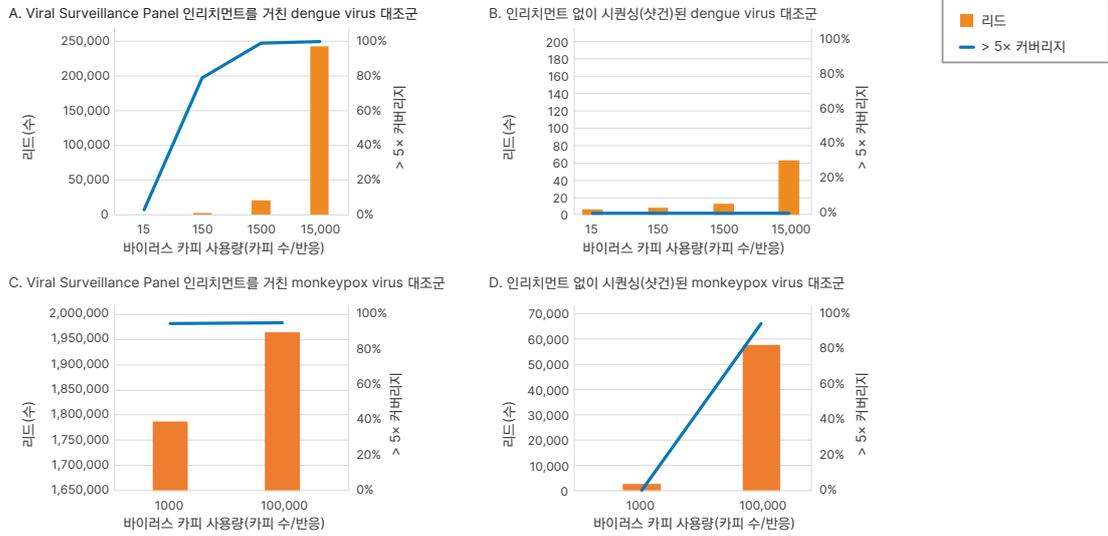


그림 2: Viral Surveillance Panel 사용 시 확인된 리드 수 및 바이러스 유전체 커버리지 증가* — 상용 바이러스 대조군을 사용하여 Viral Surveillance Panel의 성능과 인리치먼트 없이 수행한 시퀀싱의 성능을 비교한 그래프. (A) 10 ng의 인간 RNA 백그라운드 혼합 후 Viral Surveillance Panel 인리치먼트를 거친 dengue virus 대조군, (B) 10 ng의 인간 RNA 백그라운드 혼합 후 인리치먼트 없이 시퀀싱된 dengue virus 대조군, (C) 10 ng의 인간 RNA 및 10 ng의 인간 DNA 백그라운드 혼합 후 Viral Surveillance Panel 인리치먼트를 거친 monkeypox virus 대조군, (D) 10 ng의 인간 RNA 및 10 ng의 인간 DNA 백그라운드 혼합 후 인리치먼트 없이 시퀀싱된 monkeypox virus 대조군. 모든 샘플은 시퀀싱되었으며, 시퀀싱 데이터는 2 × 149 bp의 리드 길이와 2M 개의 페어드 엔드 리드로 표준화(normalization)됨.

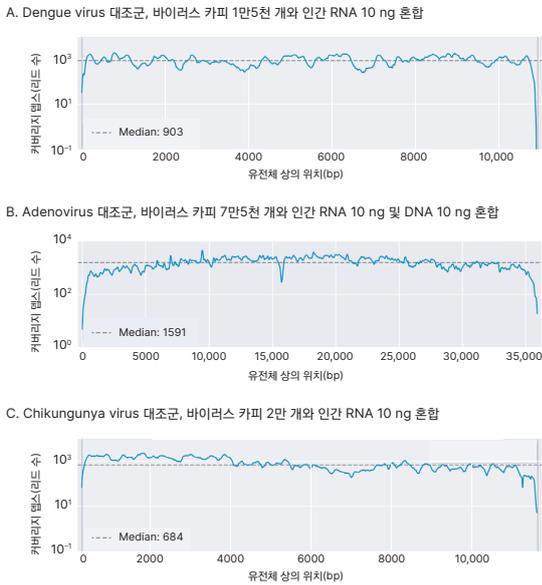


그림 3: Viral Surveillance Panel 인리치먼트 후 확인된 균일한 바이러스 유전체 커버리지* — 바이러스 대조군은 알려진 카피 수(copy number)를 사용해 바이러스 대조군을 10 ng의 인간 RNA/DNA와 혼합하여 준비되었으며, 라이브러리는 Viral Surveillance Panel 워크플로우에 따라 준비된 후 시퀀싱됨.

* Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음.

하수 감시

하수에 존재하는 바이러스 시퀀스의 감시는 바이러스 병원체의 공동체 확산에 대한 지역 지표를 제공해주어 공중 보건 전문가가 바이러스 대응 계획 시 유용한 정보로 활용할 수 있습니다. Viral Surveillance Panel은 이러한 샘플을 연구할 때 샷건 시퀀싱보다 낮은 농도로 하수에 존재하는 바이러스 유전체를 조기에 감지하고 식별할 수 있습니다(표 2).

요약

Viral Surveillance Panel은 바이러스 출현의 감지 및 모니터링에 최적화된 완전한 워크플로우를 제공합니다. 이 패널에는 공중 보건에 큰 위험을 초래할 수 있는 것으로 확인된 66개의 전체 RNA 및 DNA 바이러스 유전체의 연구에 필요한 하이브리드 캡처 프로브가 포함되어 있습니다.¹ 하이브리드 캡처 표적 인리치먼트는 표적 시퀀스의 집중적인 인리치먼트를 지원하므로 높은 샘플 리드 덱스의 필요성을 경감시켜 주어, 비용의 절감과 처리량의 향상에도 도움이 됩니다. Viral Surveillance Panel 워크플로우는 지역 사회에서의 바이러스 존재 확인을 위한 하수 감시 등 다양한 종류의 샘플과 응용 분야를 지원합니다. 마지막으로 Viral

표 2: Viral Surveillance Panel 또는 샷건 시퀀싱을 통해 하수에서 검출된 바이러스^{a*}

	Viral Surveillance Panel	샷건 시퀀싱	Viral Surveillance Panel	샷건 시퀀싱
식별된 바이러스	≥ 5x 유전체 커버리지 (%)		리드(수)	
Astrovirus	98.9	0	122525	7
JC polyomavirus	98.9	0	29749	0
BK polyomavirus	97.8	0	29318	5
hCoV-OC43	87.3	0	23352	8
Aichivirus A	95.1	0	16919	4
Norovirus GII	90.0	0	7873	0
Coxsackievirus A19	65.2	0	7195	0
Norovirus GII.P7_GII.6	69.7	0	2572	0
Norwalk-like virus	57.3	0	1191	0
Norovirus GI strain	51.2	0	859	0

a. 샘플은 Colorado State University 연구진이 수집하였으며, 검사를 위해 정제된 전체 핵산을 Illumina로 전달함. 라이브러리는 100 ng의 핵산을 이용하여 준비된 후 시퀀싱됨.
 * Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음.

Surveillance Panel은 BaseSpace Sequence Hub에서 무료로 사용 가능한 Microbial Enrichment 분석 파이프라인과도 호환됩니다. 이 NGS 워크플로우는 비용 부담이 크고 복잡한 샷건 시퀀싱을 대체할 수 있는 방법을 공중 보건 기관 및 연구자에게 제시합니다.

상세 정보

Viral Surveillance Panel: illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/viral-surveillance-panel.html

Illumina RNA Prep with Enrichment: illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/rna-prep-enrichment.html

BaseSpace Apps: illumina.com/products/by-type/informatics-products/basespace-sequence-hub/apps.html

Illumina 시퀀싱 플랫폼: illumina.com/systems/sequencing-platforms.html

제품 목록

제품	카탈로그 번호
Viral Surveillance Panel (96 samples)	20088154
Viral Surveillance Panel with Illumina RNA Prep with Enrichment Indexes Set A (96 samples)	20087932
Viral Surveillance Panel with Illumina RNA Prep with Enrichment Indexes Set B (96 samples)	20087929

참고 문헌

1. Bloom DE, Cadarette D. [Infectious Disease Threats in the Twenty-First Century: Strengthening the Global Response](#). *Front Immunol*. 2019;10:549. Published 2019 Mar 28. doi:10.3389/fimmu.2019.00549
2. McClary-Gutierrez JS, Aanderud ZT, Al-Faliti M, et al. [Standardizing data reporting in the research community to enhance the utility of open data for SARS-CoV-2 wastewater surveillance](#). *Environ Sci (Camb)*. 2021;9:10.1039/d1ew00235j. doi:10.1039/d1ew00235j
3. Illumina. Illumina RNA Prep with Enrichment (L) Tagmentation: Reference guide. support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/illumina_prep/RNA/illumina-rna-prep-reference-guide-1000000124435-03.pdf. Published 2021. Accessed September 13, 2022.

illumina®

무료 전화(한국) 080-234-5300
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 Illumina, Inc. All rights reserved.
모든 상표는 Illumina, Inc. 또는 각 소유주의 자산입니다.
특정 상표 정보는 www.illumina.com/company/legal.html을 참조하십시오.
M-KR-00098 KOR

연구 전용입니다. 진단 절차에는 사용할 수 없습니다.