

宏病毒组（二）| 样本前处理

由于病毒核酸在样本中的相对含量非常低，容易受到宿主基因组的严重干扰，且病毒的结构具有独特性，缺少具有固定保守的进化标记基因，无法通过保守的基因分析来鉴定分类信息，使得宏病毒组研究从样本制备开始到数据分析都存在着一一定的困难。目前，从样本制备层面主要有病毒样颗粒（VLP） metagenomes 和 Bulk metagenomes 两种。

1 病毒颗粒富集

使用滤膜过滤或 CSCI 梯度密度离心的方式去除宿主细胞和细菌等污染，以达到富集病毒颗粒的目的。不同的化学试剂与不同的滤膜，对颗粒的富集及后续的数据结果，都会有一定的影响。



图 1 VLPs 富集处理流程

2 非富集方法

直接从样本中提取 DNA/RNA，核酸提取方案如图 2。提取的核酸基本包含了当下样本的全部宏基因组信息，其中有 1%-17%为病毒 DNA(Qin, et al, 2010; Minot, et al, 2011)。

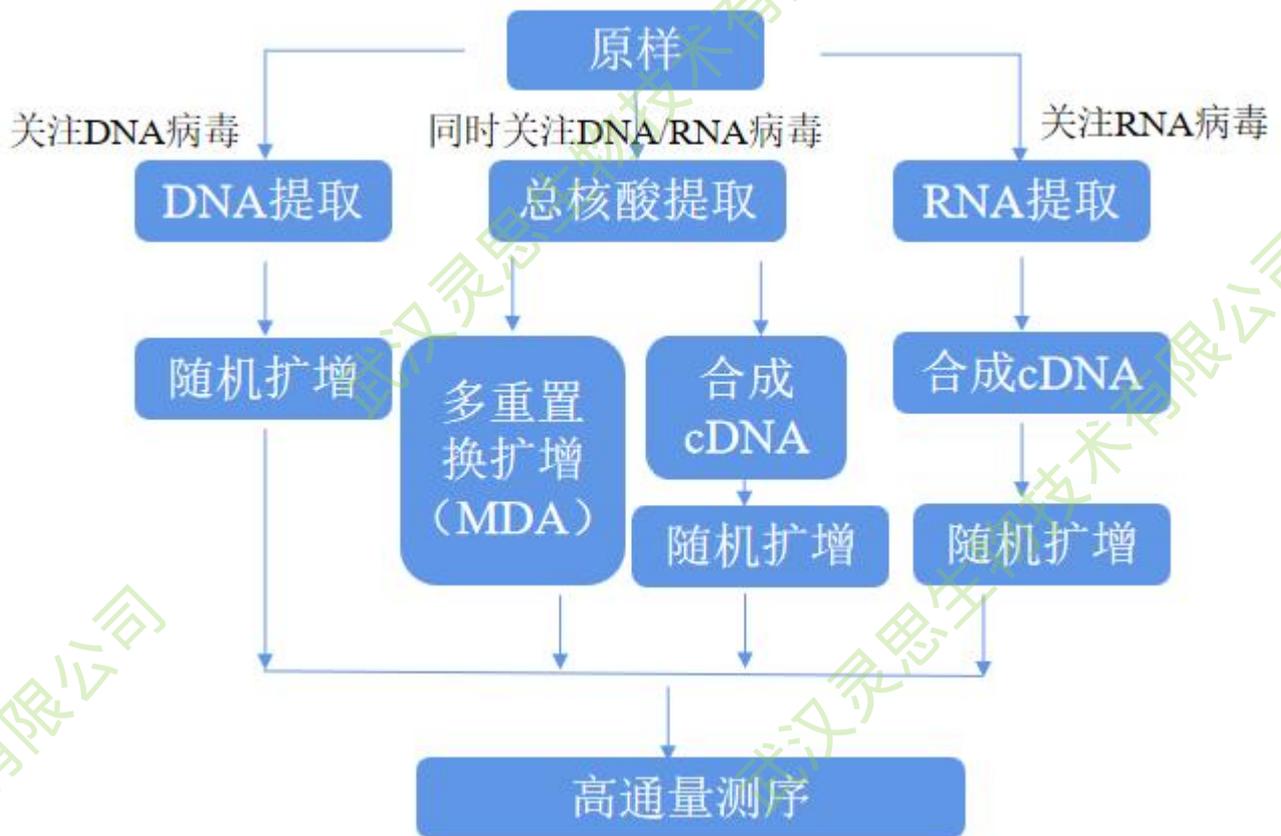


图 2 不同研究目的核酸准备方案

3 不同实验方法结果比较

与未经 VLPs 富集的实验方法比，三种纯化方式（图 3）在去除宿主 DNA 和细菌 DNA 均是非常成功的，富集倍数均可达到 40000 倍以上。其中 CsCl 方法的富集效果最佳，达到 49077 倍，FD 富集效果最弱，但也有 41517 倍。这些变化的富集倍数均可表明，在去除细菌 DNA 时，这三种纯化方式的去除率均可达到 99.99%以上 (Kleiner M, et al, 2015)。未经 VLPs 富集的宏转录组方法揭示了高水平的病毒多样性，其中检测到的最丰富的病毒是 Caudovirales, Luteo-Sobemo, Narna-Levi, Partiti-Picobirna, Picorna-Calici 和 Tombus-Noda。相反，VLPs 富集后宏基因组方法揭示了相对较低的病毒多样性。Caudovirales 占病毒 reads 中的主要比例 (69.89%至 99.49%)，而 Microviridae, Circoviridae, Genomoviridae, Parvoviridae, Herpesviridae, Polyomaviridae, 和 Papillomaviridae 检测到的丰度较低 (图 4, 上部分为未进行 VLPs 富集的结果, 下面为 VLPs 富集后的结果)。宏转录组和宏基因组两种方法同时使用, 是获得样本中病毒群落分类和功能概况的有力工具(Chong R, et al, 2020)。

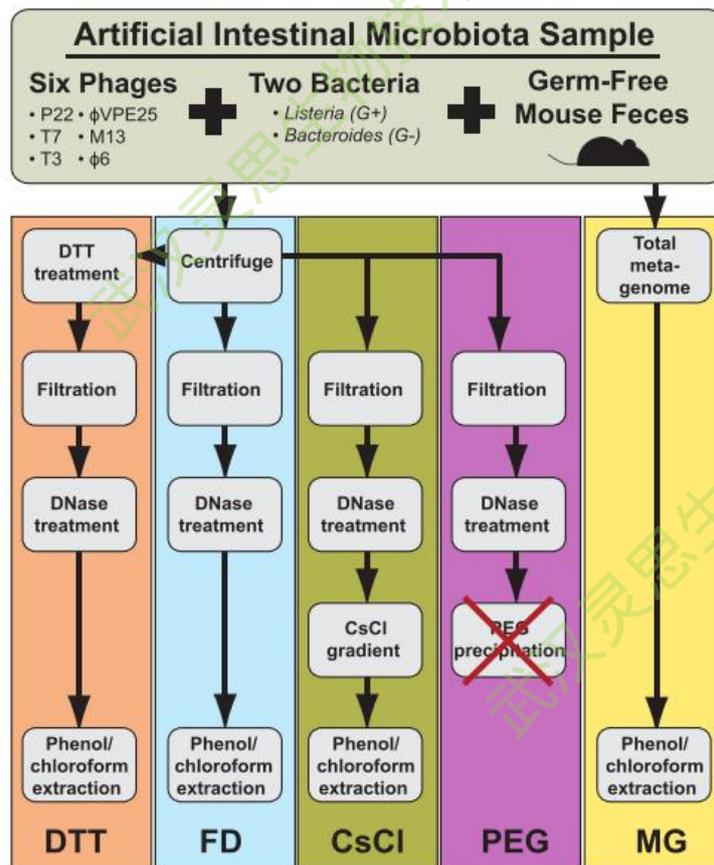


图 3 VLPs 纯化方法示意图(Kleiner M, et al, 2015)

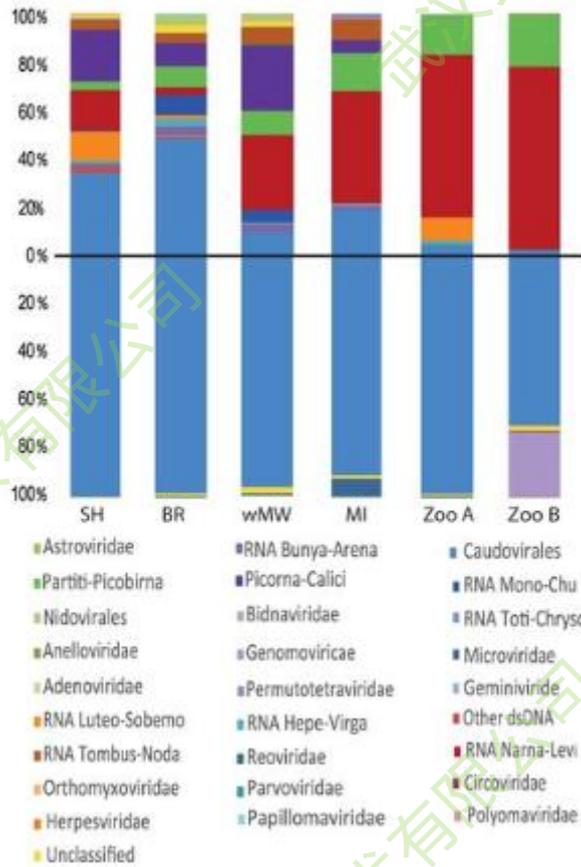


图 4 宏转录组与 VLPs 富集后宏基因组检测到病毒丰度分布图

种类	最低送样量	建议送样量
植物组织	鲜重 1g	鲜重 1.5g
动物组织	组织鲜重 0.5g	组织鲜重 1.0g
粪便	鲜重 2g	鲜重 5~10g
肠道内容物	鲜重 2g	鲜重 5~10g
水样滤膜	直径 3-5cm, 5 张 (1 L)	直径 3-5cm, 10~15 张
土壤	鲜重 2g	鲜重 5~10g

灵思生物致力于为客户提供更好的产品体验, 坚持不断地优化宏病毒产品, 基于客户的研究目的, 给客户提供最优的实验方案。灵思生物推出宏病毒组产品服务以来, 受到了客户的广泛关注, 我们也将不断地对该产品实验端、分析端进行优化升级, 给大家带来更加优质、专业的服务!

灵思生物——提供专业、高效的高通量测序及多组学分析服务

灵思生物引进了高通量测序平台、10x 单细胞平台、质谱平台以及华为超算平台。

专注于高通量测序技术在医学健康和生命科学领域的应用，提供国内领先的基因及多组学测序服务。

咨询电话：18171096640

邮箱：market@lingsibio.cn

网址：www.lingsibio.cn

公司地址：湖北省武汉市洪山区花城大道 8 号软件新城 D2 栋 4 楼 009 室

窗体顶端

窗体底端

武汉灵思生物组学目录

PRODUCT SUMMARY

单细胞

01

10x单细胞转录组
10x单细胞免疫组库 (BCR/TCR)
10x单细胞ATAC
空间转录组
时空组学
单管单细胞 (Smart-seq)

基因组学

02

人全基因组重测序
人全外显子测序
动植物基因组denovo测序
动植物全基因组重测序
真菌基因组
细菌基因组
细菌完成图
叶绿体基因组
线粒体基因组
病毒基因组

转录组调控组学

03

真核 (原核) 转录组
Small RNA测序
LncRNA测序
Circle RNA测序
全转录组测序
全长转录组

微生物组学

04

微生物多样性测序
宏基因组
宏转录组
宏病毒组
微生物组成谱
功能基因测序
抗生素抗性 (ARGs) 基因定量
eDNA (metabarcoding)
病毒表达组

表观遗传学

05

ChIP-Seq
ATAC-Seq
Hi-C
全基因组甲基化 (WGBS)
MeRIP-seq (m6A)

质谱服务

06

蛋白质组学 i-TRAQ/TMT/Label-free
定量蛋白质组学
非靶向代谢组
靶向代谢组

特色产品

07

宏病毒检测
单细胞