

# HIV-1耐药测序组合产品

——功能强大，检测快速，操作简单，赋能艾滋病耐药监测与流行病学研究

## 产品特点

### ● 覆盖主流耐药区域

1个Panel即覆盖当前主流HIV-1药物靶向区域pol基因的蛋白酶（PR）、逆转录酶（RT）和整合酶（IN）；

### ● 检测速度快

搭配DNBSEQ-G99测序仪，最快可在20.5小时内完成16例样本的建库、测序和分析；

### ● 支持低频耐药位点检测

基于深度测序，能够检出Sanger平台无法检出的频率低于20%的耐药位点；

### ● 自动化程度高

搭配自动化文库制备系统MGISP-100、MGISP-960及HIV-GenomePro平台，可实现自动化建库和数据分析，减少人工介入；

### ● 软件功能丰富

具有病毒分型、基因组组装、变异检测和进化溯源功能，基于斯坦福HIVdb数据库，可实现耐药位点的精准预测和注释，还可通过合并多样本组装序列进行HIV-trace分析，获得可视化分子网络图。

## 简介

因HIV病毒药物抗性突变而导致的耐药性是HIV患者抗病毒治疗失败的最常见原因。及时进行耐药检测与监控，掌握个体与群体的耐药状况，在艾滋病预防与治疗中具有重要作用。华大智造HIV-1耐药测序组合产品基于自主研发的文库制备试剂、自动化样本制备系统、测序仪以及分析软件，实现从病毒RNA到报告全流程覆盖，对样本中的HIV-1病毒进行快速、准确地检测。

表 1. 产品参数

预期用途	HIV-1的分型和耐药检测
覆盖区域	Pol基因 PR/RT/IN 区域
适用样本类型	从血浆、血清、培养毒株等样本中提取的病毒RNA
适配的测序平台	DNBSEQ-G99/DNBSEQ-E25/MGISEQ-200
推荐测序读长	PE150
推荐测序数据量	1 M PE150 Reads
推荐投入量	≥100 拷贝/反应
推荐通量	16个样本 (DNBSEQ-E25)
	60个样本 (DNBSEQ-G99)
	60个样本 (MGISEQ-200 FCS)
文库制备周期 (16个样本)	300个样本 (MGISEQ-200 FCL)
	<8.5h
分析时间 (16个样本)	<2h (DNBSEQ-G99ARS)
	≈1h (HIV-GenomePro平台)



图 1. 工作流程图

## 产品性能

为测试本产品方案与金标准Sanger测序结果的一致性，以血浆、培养毒株提取的RNA为样本进行文库制备，基于DNBSEQ-G99ARS平台进行测序与分析，并与Sanger测序结果进行对比，从表2可以看出，MGI方案与Sanger的序列一致性>98%，分型结果一致。

表 2. 与Sanger结果的一致性对比

样本编号	MGI与Sanger序列的一致性	分型结果(sanger)	分型结果(MGI)
S1	99.06%	B	B
S2	98.36%	CRF01_AE	CRF01_AE
S3	99.62%	CRF07_BC	CRF07_BC
S4	98.94%	CRF08_BC	CRF08_BC
S5	100%	CRF01_AE	CRF01_AE

为测试本产品方案低频耐药位点检出性能，以1例血浆提取的RNA为样本进行文库制备，基于DNBSEQ-G99ARS平台进行测序与分析，并与Sanger测序结果进行对比，从表3耐药检出结果可以看出，MGI产品方案能检出Sanger无法检出的低频突变（红色标记的耐药位点），括号内为突变频率。

表 3. 耐药位点检出结果

药物类型	NRTI	NNRTI
MGI方案检出的耐药位点	K219N(97.27%), M41L(9.65%)	K103N(28.31%), Y181C(99.88%), H221Y(2.75%)
Sanger检出的耐药位点	K219N	K103N, Y181C

为测试本产品方案的最低检测限，以1例培养毒株提取的RNA为样本（参考耐药位点: Y115F, M184V, K219E, K103N, E138G, V179E），按照浓度梯度依次稀释后，分别进行文库制备并基于DNBSEQ-G99ARS平台进行测序与分析，从表4结果可以看出，当多重扩增反应中的病毒拷贝数为7.67E+02的时候，所有参考耐药位点均能被准确检出。当多重扩增反应中的病毒拷贝数低至7.67E+01时，K103N耐药位点未能检出，而其余5个参考耐药位点及其突变频率仍能被准确检测出。因此本产品方案的最低检测限约为10<sup>2</sup>cps/rxn\*。如果是检测低频耐药位点，推荐病毒投入量≥10<sup>3</sup>cps/rxn。此外，各个突变位点的突变频率在不同浓度梯度中也均极为接近，具有极佳的重复性。

\* cps/rxn与血浆病载cps/mL的换算公式

每个rxn中的HIV病载拷贝数 (cps / rxn) = [血浆病载 (cps/mL) × 提取使用的血浆体积 (mL) × 多重扩增使用的提取核酸产物体积 (μL)] / 最终提取核酸产物的体积 (μL) 例如，已知经过QPCR测得某样本血浆HIV病载为10000 cps/mL，提取使用的血浆体积为0.2 mL，核酸提取产物最终体积30 μL，进行RT-PCR多重扩增的核酸提取产物投入量为20 μL，则对应到每个RT-PCR多重扩增反应中的HIV拷贝数=(10000 cps · mL<sup>-1</sup> × 0.2 mL × 20 μL) / 30 μL ≈ 1333 cps/rxn。

表 4. 各浓度梯度耐药位点检出结果

每个扩增反应的病毒拷贝数	100× Coverage(%)	NRTI耐药位点	NNRTI耐药位点
7.67E+06	93.8	Y115F(99.67),M184V(99.67), K219E(99.72)	K103N(99.82),E138G(99.87), V179E(99.72)
7.67E+05	93.8	Y115F(99.74),M184V(99.81), K219E(99.69)	K103N(99.79),E138G(99.9), V179E(99.74)
7.67E+04	90.33	Y115F(99.63),M184V(99.69), K219E(99.79)	K103N(99.77),E138G(99.85), V179E(99.77)
7.67E+03	90.83	Y115F(99.72),M184V(99.86), K219E(99.67)	K103N(99.86),E138G(99.81), V179E(99.71)
7.67E+02	86.32	Y115F(99.59),M184V(99.79), K219E(99.75)	K103N(99.74),E138G(99.62), V179E(99.44)
7.67E+01	83.94	Y115F(99.62),M184V(98.94), K219E(100.0)	E138G(99.67),V179D(99.66)

为了研究不同MGI测序平台的结果一致性，以4例培养毒株提取的RNA为样本，进行文库制备，分别基于DNBSEQ-G99ARS、DNBSEQ-E25RS和MGISEQ-200平台进行测序，并对测序数据进行分析，通过有效序列比例、HIV序列占比、1×覆盖度、100×覆盖度、不含N的比率这些指标来判断下机数据的一致性，从图2可以看出，同一样本3款平台的下机数据体现出极高的一致性。此外，从表5可以看出，同一样本不同平台的下机数据经分析之后，耐药位点检出结果也完全一致。

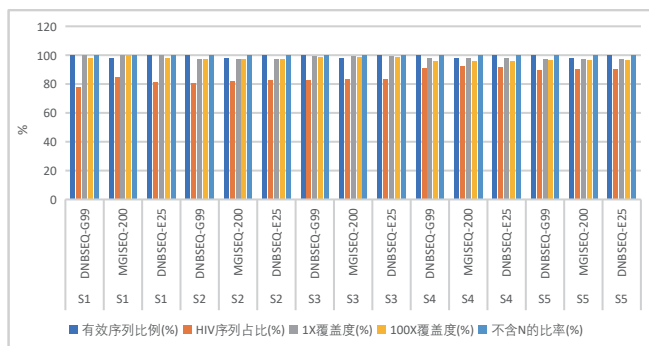


图 2. 不同平台下机指令数据柱状图

表 5. 不同平台耐药位点检出结果

样本编号	平台	NRTI耐药位点	NNRTI耐药位点
S1	DNBSEQ-G99	M41L(10.85),K219N(96.99)	K103N(27.93),Y181C(99.81), H221Y(2.78)
S1	MGISEQ-200	M41L(10.98),K219N(97.19)	K103N(27.75),Y181C(99.76), H221Y(2.38)
S1	DNBSEQ-E25	M41L(10.08),K219N(96.66)	K103N(27.14),Y181C(99.56), H221Y(3.16)
S2	DNBSEQ-G99	--	V106I(3.0)
S2	MGISEQ-200	--	V106I(2.7)
S2	DNBSEQ-E25	--	V106I(2.56)
S3	DNBSEQ-G99	--	--
S3	MGISEQ-200	--	--
S3	DNBSEQ-E25	--	--
S4	DNBSEQ-G99	--	--
S4	MGISEQ-200	--	--
S4	DNBSEQ-E25	--	--
S5	DNBSEQ-G99	Y115F(99.86),M184V(99.63), K219E(99.62)	K103N(99.96),E138G(99.97), V179E(99.79)
S5	MGISEQ-200	Y115F(99.8),M184V(99.64),K219E(99.72)	K103N(99.83),E138G(99.42), V179E(99.54)
S5	DNBSEQ-E25	Y115F(99.77),M184V(99.68), K219E(99.53)	K103N(99.86),E138G(99.55), V179E(99.75)

以S1样本为例，对其分析报告内容进行展示，表6为基础分析结果。结果显示，该样本的亚型为HIV-1的B亚型，Q30为95.1%，有效序列比例99.99%，1×覆盖度为100%，100×覆盖度98.18%，不含N的比率100%，这些指标表明测序质量优异，满足下游深度分析的需求。此外，系统会生成PR, RT, IN三个基因组片段的基因组覆盖图（图3），从基因组覆盖图可以看出，测序Reads分布均匀，能够很好地覆盖目标区域。

表 6. 病毒检测与数据质控结果

样本编号	性别	年龄	HIV型别	亚型	耐药突变数目	监测突变数目	
S1	-	-	HIV-1	B	5	4	
原始序列数	原始Q30(%)	原始GC含量(%)		有效序列比例(%)	比速率(%)		
2000000	95.1	44.23		99.99	100.0		
有效序列数	HIV序列数	HIV序列占比(%)	1X覆盖度(%)	100X覆盖度(%)	是否组装	HIV浓度(cp/ul)	HIV相对浓度(cp/ul)
1999860	1557994	77.91	100.0	98.18	是	-	-
基因组区域	参考基因组长度	组装长度	不含N组装长度	不含N的比率(%)	下载链接		
2253-3680;4043-5242	2628	2628	2628	100.0	<a href="http://Hiv_it_1_2_MGI_G99.genome.fa">Hiv_it_1_2_MGI_G99.genome.fa</a>		

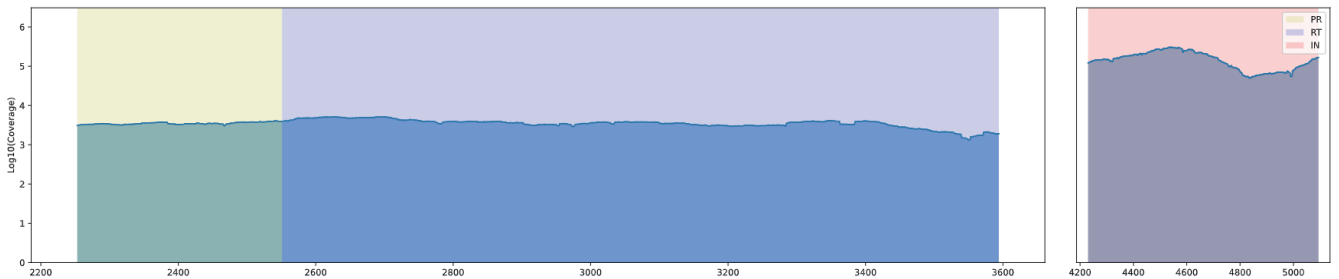


图 3. 基因组覆盖图

然后，通过比对参考序列，系统会对变异位点进行分析，如表7所示，系统会判断是否属于监测位点，并给出野生型碱基、突变型碱基、突变频率、测序深度等信息。系统还会生成基因突变图（图4），可直观地了解氨基酸突变在参考基因组片段上对应的位置以及频率。

表 7. 变异位点结果

基因	耐药分类	是否监测位点	野生型	氨基酸位置	突变型	野生型碱基	基因组位置	突变型碱基	突变频率(%)	测序深度
PR	Other	no	V	3	I	G	2259	A	98.09	262
PR	Other	no	L	10	I	C	2280	A	17.99	2974
PR	Other	no	E	35	D	A	2357	C	96.65	3586
PR	Other	no	S	37	N	G	2362	A	99.72	3623
PR	Other	no	L	63	P	T	2440	C	99.36	3455
PR	Other	no	H	69	Y	C	2457	T	2.17	3370
PR	Other	no	A	71	T	G	2463	A	86.72	2907
PR	Other	no	A	71	V	C	2464	T	12.76	2907

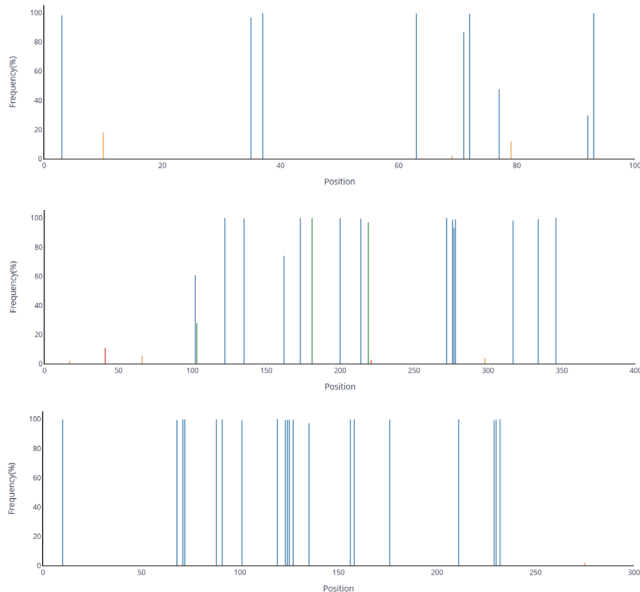


图 4. PR,RT和IN的基因突变图

再基于斯坦福耐药数据库，系统对耐药位点进行预测、注释和打分，如表8所示，该样本的耐药位点出现在RT区域，耐药药物类别为NRTI,而且对依非韦仑、奈韦拉平和利匹韦林存在高度耐药的情况；

表 8. 耐药分析结果

药物类别	药物名称	药物简称	基因	突变	耐药得分	耐药程度
NRTI	拉米夫定	3TC	RT	M41L(I,0.85),K219N(96.99)	0	敏感
	恩曲他滨	FTC	RT	M41L(I,0.85),K219N(96.99)	0	敏感
	阿巴卡韦	ABC	RT	M41L(I,0.85),K219N(96.99)	10	潜在低水平耐药
	地丹诺辛	DDI	RT	M41L(I,0.85),K219N(96.99)	15	低水平耐药
	替诺福韦酯	TDF	RT	M41L(I,0.85),K219N(96.99)	10	潜在低水平耐药
	多替夫定	D4T	RT	M41L(I,0.85),K219N(96.99)	25	低水平耐药
齐多夫定	AZT	RT	M41L(I,0.85),K219N(96.99)	25	低水平耐药	
NNRTI	多拉韦林	DOR	RT	K103N(27.93),Y181C(99.81),H221Y(2.78)	25	低水平耐药
	依非韦仑	EFV	RT	K103N(27.93),Y181C(99.81),H221Y(2.78)	100	高度耐药
	依曲韦林	ETR	RT	K103N(27.93),Y181C(99.81),H221Y(2.78)	40	中度耐药
	奈韦拉平	NVP	RT	K103N(27.93),Y181C(99.81),H221Y(2.78)	135	高度耐药
	利匹韦林	RPV	RT	K103N(27.93),Y181C(99.81),H221Y(2.78)	60	高度耐药

最后，系统将该样本拼接后的基因组片段进一步与已发表的具有代表性的HIV亚型参考基因组进行溯源分析，生成进化树图，如图5所示，结果显示S1样本与2010年中国报道的B-KP178435毒株高度同源，红色箭头所指即为该样本的溯源结果。

### 总结

综上所述，华大智造HIV-1测序组合产品具有性能优异、功能丰富、省时省力等特点，是艾滋病耐药监测和流行病学研究的理想工具。

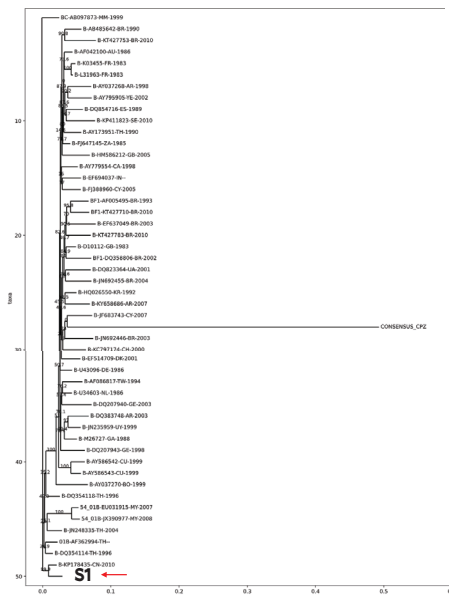


图 5. 进化树图

### 订购信息

类别	产品名称	规格	货号
仪器	DNBSEQ-G99ARS 基因测序仪	高配	900-000608-00
	DNBSEQ-E25RS基因测序仪	标配	900-000490-00
	MGISEQ-200RS基因测序仪	配置2	900-000350-00
	MGISP-100RS自动化样本制备系统	标准配置	900-000070-00
	MGISP-960RS 高通量自动化样本制备系统	配置 2	900-000093-00
	MGISP-960RS 高通量自动化样本制备系统	配置 7	900-000107-00
试剂	ATOPlex HIV-1扩增试剂盒	16 RXN	940-000722-00
	MGIEasy Fast PCR-FREE 酶切文库制备试剂套装	16人份/盒	940-000019-00
	MGIEasy Fast PCR-FREE 酶切文库制备试剂套装	96人份/盒	940-000021-00
	MGIEasy DNA纯化磁珠试剂盒	8 mL/支	1000005278
	DNBSEQ一步法 DNB制备试剂盒 (OS-DB)	4 RXN	1000026466
	CPAS条形码引物3试剂盒	3.5 mL	1000020834
	DNBSEQ-G99RS高通量测序试剂套装	G99 SM FCL PE150	940-000410-00
	DNBSEQ-G99RS 高通量测序试剂套装	G99 FCLPE150	940-001269-00
	MGISEQ-200RS 高通量快速测序试剂套装	FCS PE150	1000019847
	MGISEQ-200RS 高通量测序试剂套装	FCL PE150	1000019843
	DNBSEQ-E25RS 高通量测序试剂盒	FCL PE150	940-000567-00
分析	HIV-GenomePro软件	-	970-000281-00
	HIV-GenomePro平台	-	900-000598-00



股票简称：华大智造  
股票代码：688114

✉ MGI-service@mgi-tech.com

🌐 www.mgi-tech.com

☎ +86-4000-688-114



官方微信



官方中文网站

深圳华大智造科技股份有限公司