



首页 概况简介 机构设置 人才队伍 人才招聘 研究生教育 科研成果 成果转化 党群文化 科学普及 信息公开

当前位置: 首页 > 新闻动态 > 科研进展

## 青岛能源所与中国海洋大学发明高分辨率高灵敏度的微生物组测序技术

供稿部门: 单细胞中心 | 发布时间: 2022-01-26 | 【大 中 小】 | 【打印】 【关闭】



微生物组(又称菌群)在自然界和人体中无处不在,因此菌群测序在生态健康诊断、生态过程监控、生物资源挖掘、合成生物学研究等领域均具广阔应用。针对目前菌群测序方法学领域面临的痛点与难点,青岛能源所单细胞中心和中国海洋大学发明了一种高物种分辨率、高灵敏性、可同时鉴定所有原核与真核微生物、不惧样品降解或污染、低成本的微生物组测序技术(2bRAD-M)。该项成果发表于国际基因组学领域权威期刊Genome Biology。



高效分析痕量降解微生物组的2bRAD-M技术

IIB型限制性内切酶就如同二郎神手中的三尖两刃戟,在微生物DNA上寻找核心识别位点并同时切割其两侧翼序列【对应“三尖两刃”】,从而产生大量等长短标签,通过扩增、测序及相关算法计算,可对痕量、高度降解、严重污染的菌群样本进行种水平的细菌、古菌和真菌鉴定

在微生物组研究中,解析微生物群落的物种构成主要依赖于两种高通量手段:扩增子测序(16S/18S/ITS)和鸟枪法宏基因组测序(WMS)。然而目前这两种主流手段都面临着关键瓶颈。扩增子测序存在扩增偏好性、脱靶扩增、物种分辨率低等问题,且通常无法同时检测细菌、古菌与真菌。鸟枪法测序虽然一定程度上解决了上述问题,但对样本DNA质和量的要求高,故通常难以分析痕量、高度降解或污染严重的样品,而且测序成本相对较高。因此,亟待开发一种高物种分辨率、高灵敏性、可同时鉴定所有原核与真核微生物、不惧样品降解或污染、低成本的微生物组测序技术。

针对上述瓶颈,青岛能源所单细胞中心孙政博士和黄适博士为核心骨干的研究小组,建立了名为2bRAD-M的“简化宏基因组测序技术”,有效克服了上述扩增子测序和鸟枪法测序的核心缺陷,有望作为一种共性的新手段,服务于人体与环境中的痕量、高度降解或污染严重之菌群样品的高效解析。

IIB型限制性内切酶,是一种能够识别双链DNA分子中的某种特定核苷酸序列,并在识别位点上游和下游的特定距离进行切割,形成等长短片段(20-33 bp)的核酸内切酶。作为一种基于IIB型限制性内切酶特性的测序技术,2bRAD目前已经应用于包括人体、模式动物、海洋动物等上百个单一物种的基因组研究。但一个菌群通常由成百上千个真菌、细菌和古菌物种组成,比分析单一物种复杂得多。

研究人员提出了2bRAD-M技术的原理:处理菌群总DNA样本,对IIB酶切片进行扩增和测序,然后以各种微生物基因组序列上的理论酶切位点为参照,来推断菌群结构。为了验证该技术,该研究首先通过模拟酶切数据,研究了不同来源、相似度或复杂程度以及不同实验方法学对菌群定性和定量分析的影响,并解决了高重复性短片段DNA干扰序列匹配的问题。其次,通过利用人工和自然菌群样本,验证了2bRAD-M的敏感性、重复性、分辨率、准确度和偏好性等,进而挖掘了该方法用于各种实际菌群样品之测序的潜力和局限性。

具体来说,研究人员证明,该技术能够有效处理低生物量菌群样本,例如,针对总DNA仅为1 pg、长度仅有50 bp的高度片段化、或99%被宿主DNA污染的人工菌群DNA样本,2bRAD-M均能得到种水平、高度准确、同时涵盖细菌、古菌和真菌的菌群结构的定性与定量分析结果。针对皮肤、肠道和环境等实际样本,2bRAD-M同样表现出色。针对临床最常见、但菌群DNA极为微量且高度降解或污染的福尔马林固定石蜡包埋(FFPE)样本,该研究发现,仅用极微量的FFPE切片样本(3 cm × 2 μm),2bRAD-M就能捕捉到潜在可服务宫颈癌诊断的微生物物种标识物。这些发现,对于肿瘤微生物组、免疫组织微生物组等基础医学研究与临床实践,具有重要的方法学意义。

该工作由单细胞中心徐健研究员与中国海洋大学王师教授主持完成,青岛欧易生物深度参与了技术研发并提供了重要技术支持,获得了国家自然科学基金、国家重点研发计划、中国博士后科学基金、山东省人才工程项目的资助,并得到宝洁公司的技术支持。(文/孙政 图/刘阳 于宁英)

原文链接: <https://doi.org/10.1186/s13059-021-02576-9>

Zheng Sun<sup>#</sup>, Shi Huang<sup>\*#</sup>, Pengfei Zhu, Lam Tzehau, Helen Zhao, Jia Lv, Rongchao Zhang, Lisha Zhou, Qianya Niu, Xiuping Wang, Meng Zhang, Gongchao Jing, Zhenmin Bao, Jiquan Liu, Shi Wang<sup>\*</sup>, Jian Xu<sup>\*</sup>. Species-resolved sequencing of low-biomass or degraded microbiomes using 2bRAD-M. *Genome Biology*, 2022, 23:36.