



发展高效、易用GutHi-C技术及其捕获微生物群体宏基因组三维相互作用应用

卢宇曦^{1, 2, 3#}, 杨金宝^{1, 4#}, 李晨莹^{1, 5#}, 田蕴涵^{1, 5}, 常荣荣^{1, 2, 3}, 孔大帅^{1, 2, 3},
杨述林⁶, 王彦芳⁶, 张玉波⁷, 朱秀生^{1*}, 潘玮华^{1*}, 孔思远^{1*}

¹岭南现代农业科学与技术广东省实验室深圳分中心, 农业农村部畜禽生物组学重点实验室, 农业农村部基因组数据分析重点实验室, 深圳农业基因组研究所, 中国农业科学院, 深圳518120, 中国.

²生命科学学院, 河南大学, 开封475004, 中国.

³河南大学深圳研究院, 深圳518000, 中国.

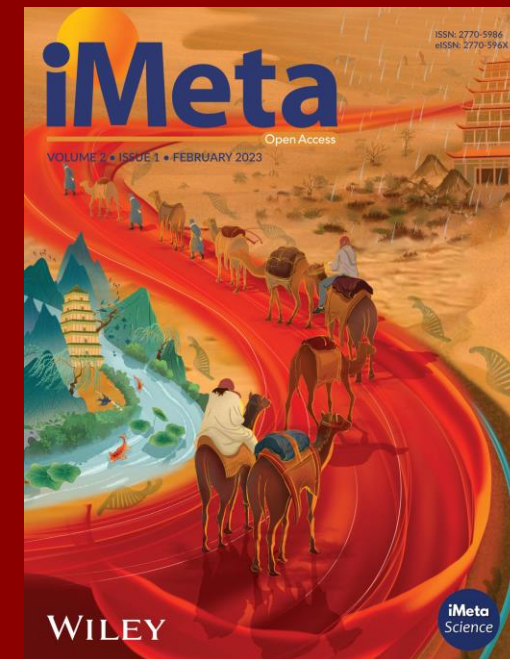
⁴信息学院, 华中农业大学, 武汉430070, 中国

⁵动物科学与技术学院, 青岛农业大学, 青岛266109, 中国

⁶畜禽生物育种全国重点实验室, 北京畜牧兽医研究所, 中国农业科学院, 北京100193, 中国

⁷弗雷德里克癌症研究国家实验室, 马里兰州21701, 美国

†第一作者, *通讯作者



Yu-Xi Lu^{1,2,3#}, Jin-Bao Yang^{1,4#}, Chen-Ying Li^{1,5#}, Yun-Han Tian^{1,5}, Rong-Rong Chang^{1,2,3}, Da-Shuai Kong^{1,2,3}, Shu-Lin Yang⁶, Yan-Fang Wang⁶, Yu-Bo Zhang⁷, Xiu-Sheng Zhu^{1*}, Wei-Hua Pan^{1*}, Si-Yuan Kong^{1*} 2024. Efficient and easy-to-use capturing 3D metagenome interactions with GutHi-C. *iMeta* 3: e227. <https://doi.org/10.1002/imt2.227>



背景

Hi-C技术（常规Hi-C高通量测序文库是利用细胞类型相同、染色质状态相同、染色质相互作用模式和构象相同的动物细胞系建立的）

哺乳动物细胞系

植物组织和细胞

微生物

目前微生物Hi-C研究测序的数据量小，数据同质性和重现性低

与细胞系相比，微生物群体中个体基因组的染色质状态复杂多变

微生物细胞壁坚固，不易裂解

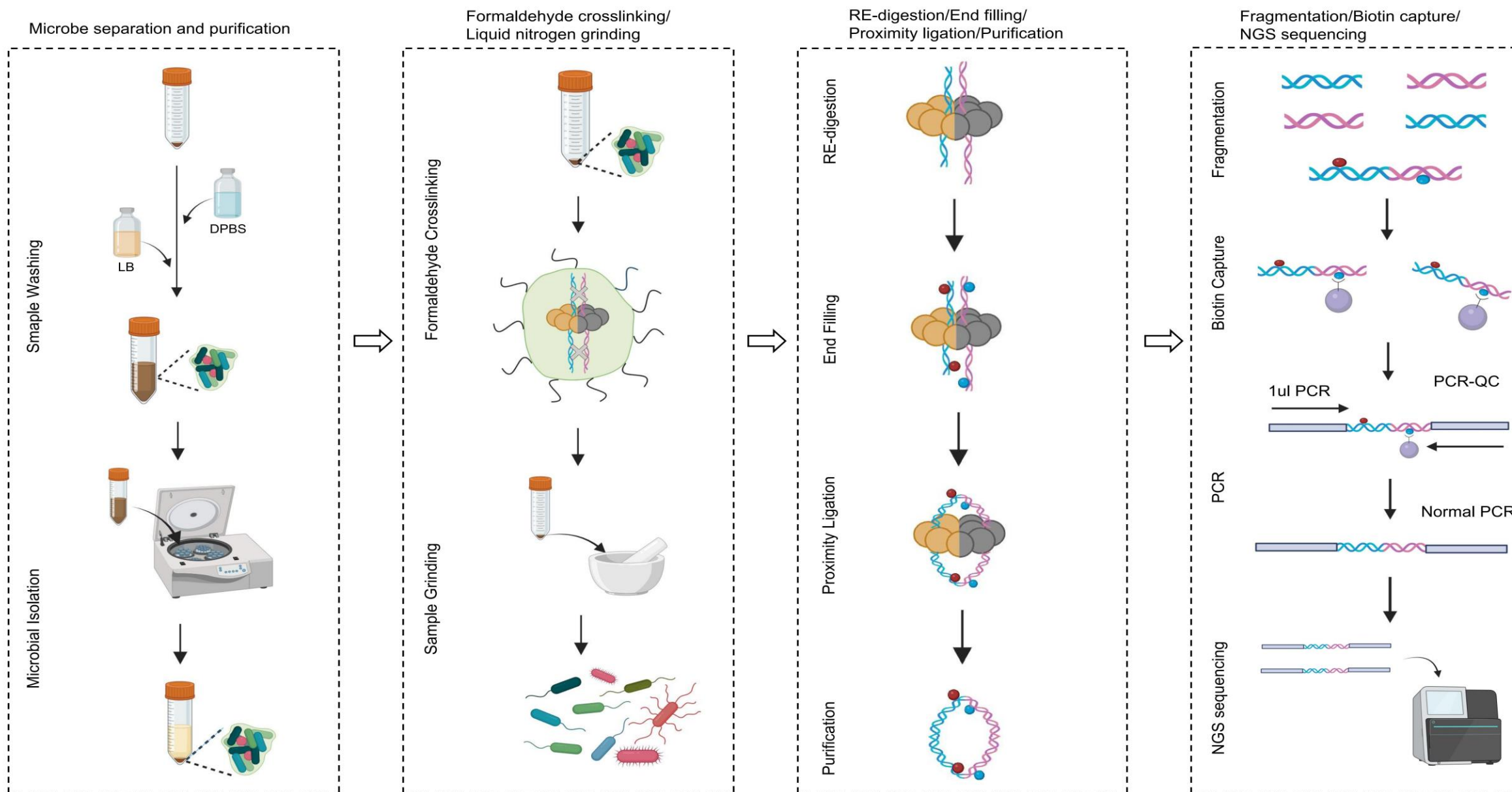
在微生物宏基因组研究中广泛使用的Shotgun技术会产生大量冗余序列，无法在种和菌株水平上进行进一步分类。Hi-C技术在三维（3D）组织模式分析和基因组辅助组装方面具有明显优势，由于技术局限性，在微生物中很少使用，这一优势没能充分利用起来

亮点：

- 本文提供了一种可靠、可行、实用的适用于微生物种群的宏基因组建库策略。
- 构建了可广泛应用于畜禽肠道微生物的 GutHi-C 技术，为微生物宏基因组的高通量测序提供了参考。
- 本文介绍了该技术的方法，该方法提高了文库构建的效率、质量以及测序数据质量，降低了文库构建的成本，适用于更广泛的应用。



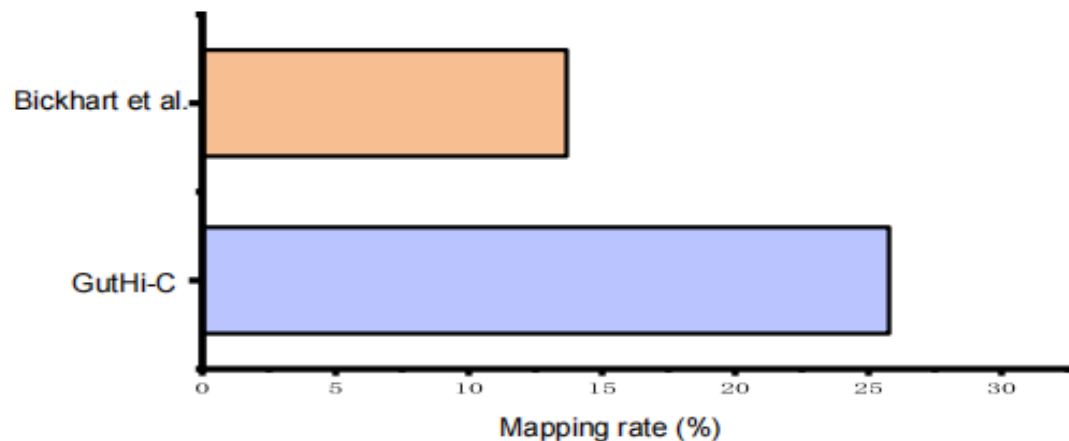
方法



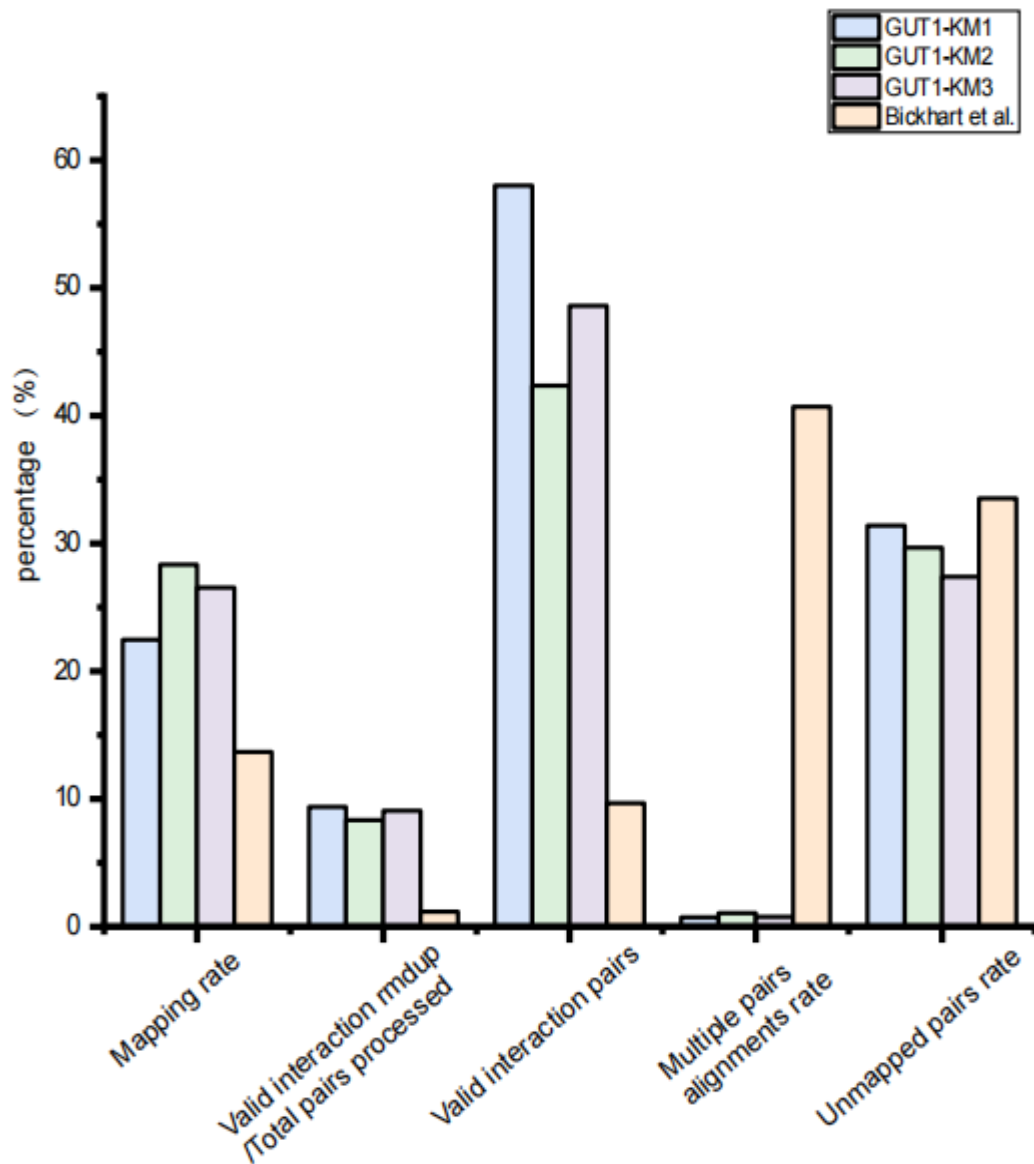


结果

应用小样本量GutHi-C文库进行GutHi-C技术的数据评估：



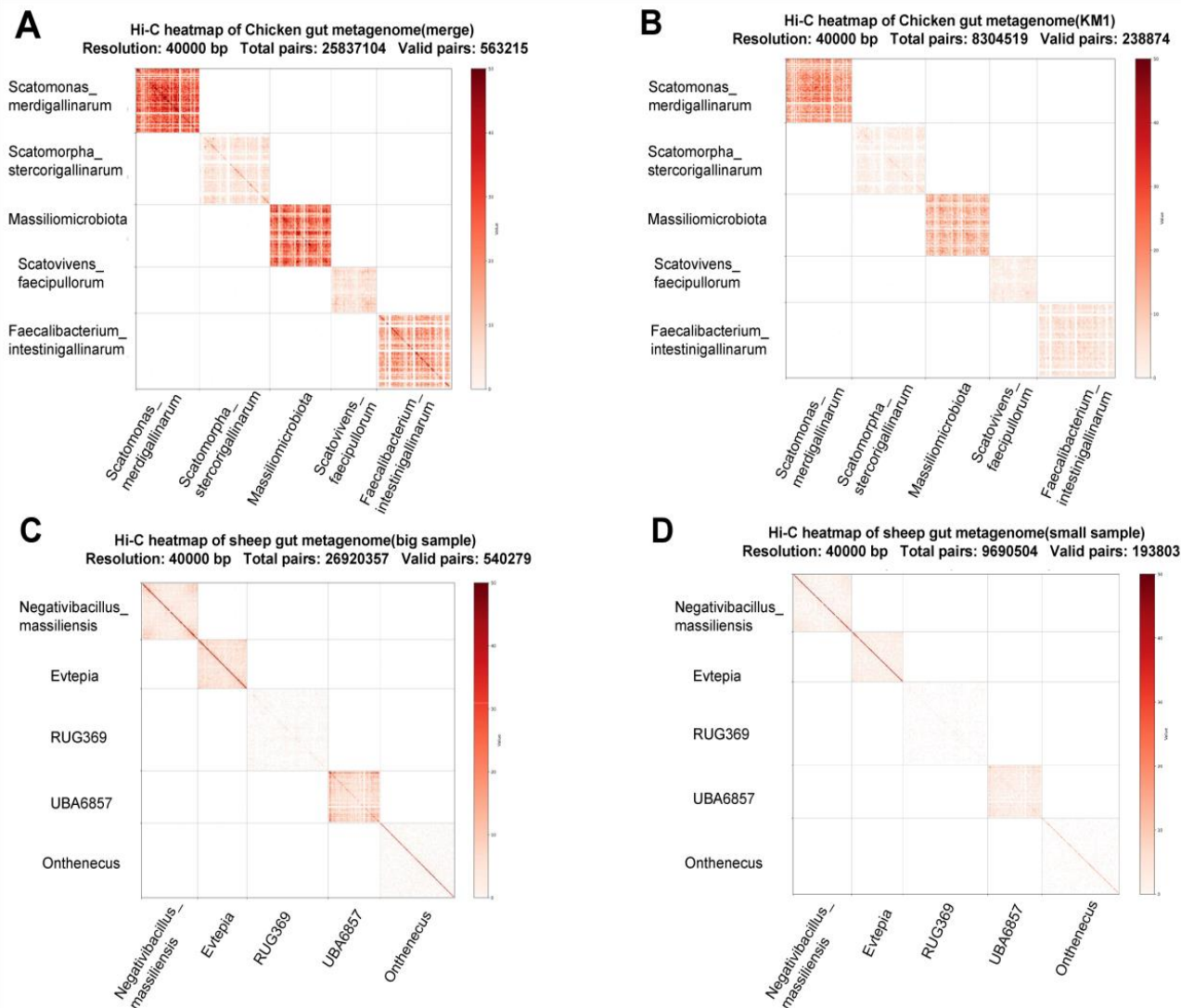
对在GutHi-C中获得的文库中进行测序（约2千兆碱基的原始数据），并对经过HiC-Pro处理后数据进行了评估。将评估结果与Bickhart等人先前发表的Hi-C数据进行对比。GutHi-C表现出明显优势。其数据比对率（唯一比对率）、有效互作对的比例以及去重后有效数据比例与先前文章（均未公开技术细节）中发表的数据具有可比性。





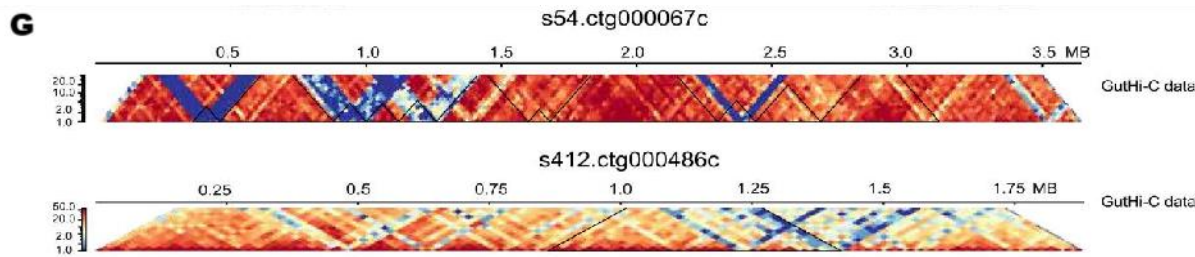
结果

应用小样本量GutHi-C文库进行GutHi-C技术的数据评估:



交互频率热图数据集比较分析:

- 一方面：对照组抽样到约 8 M total pairs 水平 (图 D), 和本研究的GUT1-KM1 (图 B)。
- 另一方面：对照组抽样到本研究三个样的和约 25 M total pairs (图 C), 和本文中 GUT1-KM1、GUT1-KM2、GUT1-KM3 合并数据 (图 A) 进行比较。
- 由比较结果可以得出，在同等数据量条件下 GUT1-KM1 (图 B) 单菌内互作频率优于对照组 (图 D)。并且 GUT1-KM1、GUT1-KM2、GUT1-KM3 合并数据 (图 A) 互作频率也优于对照组 (图 C)。

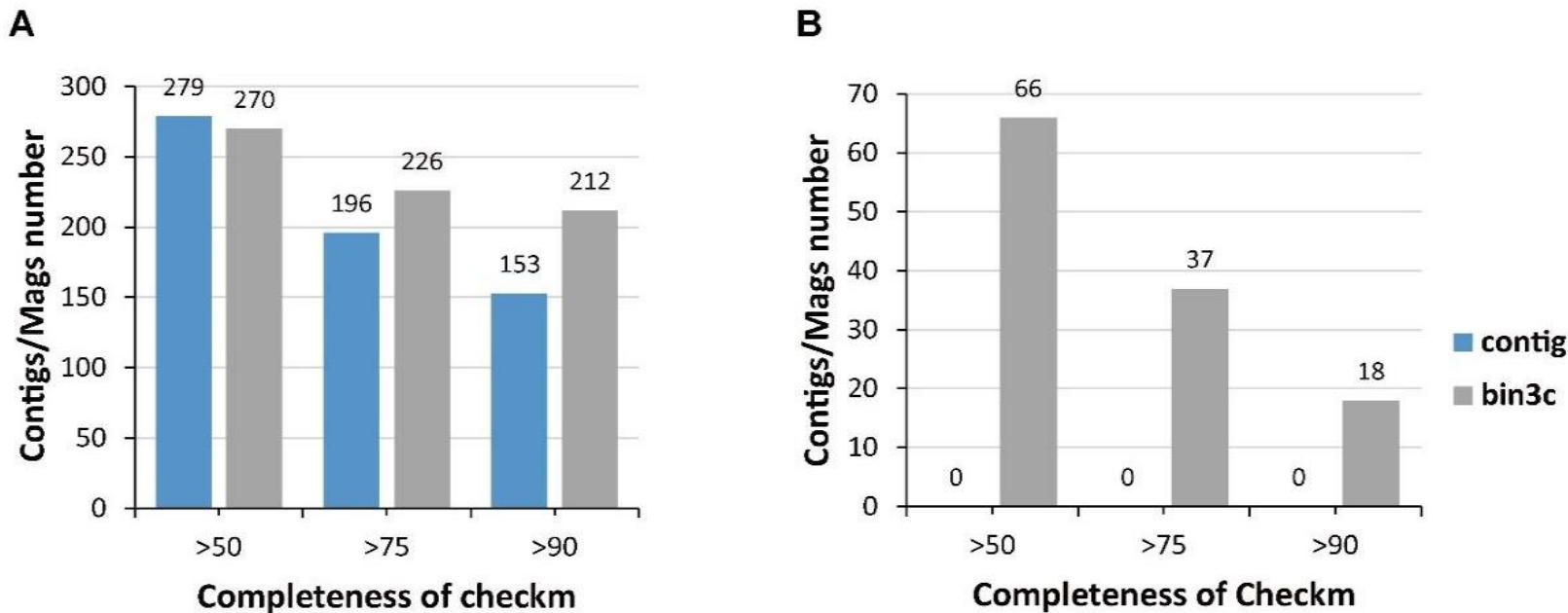


- 我们重新采集了鸡的肠道微生物，进行技术实验建库测序以获取约 100 到 150 gigabases of raw data 大数据量与对照组 ProxiMetaHi-C (也称为 Hi-C Meta) 的结果进行对比分析,首先我们选择了排名前 10 的单菌进行热图比较,这一比较显示了在我们的方法中更明显的信号强度。
- 随后，我们放大了信号最强的细菌之一，并进行了更高分辨率的绘图。从 40 K 和 20 K 分辨率中都可以观察到，我们的方法显示出明显更强的信号强度。
- 此外，如图 G 所示，图中实心黑色三角形突出显示的区域代表了一个具有强交互性的区域，我们的结果表明，鸡肠道微生物群中个体细菌内的区域具有较强的相互作用模式，而在对照组的 Hi-C 热图中，没有明显的相互作用区域。



结果

应用GutHi-C辅助宏基因组组装结合HiFi三代测序：



组装上的应用：宏基因组 Hi-C 大多数仅应用于宏基因组的辅助组装/分箱等，目前还没有应用于宏基因组中微生物三维结构的解析。

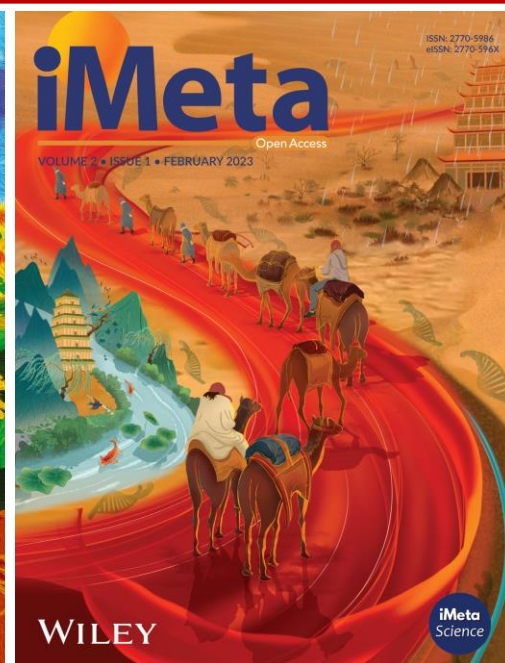
- 如图 A 所示，通过我们的建库方法，对鸡肠道宏基因组盲肠的样本进行了大规模的测序，并使用比对率较高的样本对之前鸡的三代 HiFi 测序的组装结果使用 bin3C 进行分箱，得益于 HiFi 数据本身的高准确率和高质量，我们使用 bin3C 分箱后得到了 212 个高质量的 MAGs (Completeness > 90 and Contamination < 10)，和 226 个中高质量以上的 MAGs (Completeness > 75 and Contamination < 10) (包含高质量)，比之前 contigs 级别的高质量基因组增加了 38.6%，但是中质量 (Completeness > 50 and Contamination < 10) 的 MAGs 有所减少，说明使用我们的Hi-C数据，可以对将低质量的或者中质量的 contigs 进行分类，增加高质量宏基因组的组装质量。
- 图 B 则更加明显，使用 illumina 初步组装的 contigs 中，没有一个 contig 可以达到中质量，但是使用对应的 Hi-C 数据集，我们得到了 66 个中质量 (Completeness > 50 and Contamination < 10) 的 MAGs，其中有 37 个中高质量和 18 个高质量的 MAGs。



总结

- GutHi-C 提供了一种适用于微生物群体的宏基因组 Hi-C 建库方法。基于微生物群体的共性特征，该技术可以适用于来自畜禽、人类等动物肠道、粪便的微生物群体，来自土壤的微生物群体，和培养组微生物混合物等各种环境下的微生物宏基因组建库和高通量测序，为微生物大基因组文库构建和高通量测序提供了一种高效的方法，具有良好的应用前景。
- 在文库构建过程中，采用液氮研磨和/或溶菌酶处理的方法进行微生物裂解，可以最大限度地解离微生物细胞壁，并允许内切酶完全进入细胞核。在引入 *in situ* Hi-C 体系的同时，减少了生物素和磁珠的用量，并且设置预 PCR 实验进行 QC 质控，在保证甚至提高实验数据质量的情况下，节约试剂，从而大大降低了实验成本。
- 在组装的应用方面，通过与 ProxiMeta Hi-C 对比表明，使用本方法的 Hi-C 数据，可以对将低质量的或者中质量的 contigs 进行分类，增加高质量宏基因组的组装质量。

Yu-Xi Lu^{1,2,3#}, Jin-Bao Yang^{1,4#}, Chen-Ying Li^{1,5#}, Yun-Han Tian^{1,5}, Rong-Rong Chang^{1,2,3}, Da-Shuai Kong^{1,2,3}, Shu-Lin Yang⁶, Yan-Fang Wang⁶, Yu-Bo Zhang⁷, Xiu-Sheng Zhu^{1*}, Wei-Hua Pan^{1*}, Si-Yuan Kong^{1*} 2024. Efficient and easy-to-use capturing 3D metagenome interactions with GutHi-C. *iMeta* 3: e227. <https://doi.org/10.1002/imt2.227>



“**iMeta**”(IF **23.7**)由威立、肠菌分会和数千名华人科学家出版的期刊，主编刘双江和傅静远教授。

收稿范围：任何领域高影响力的研究、方法和综述，重点关注微生物组、生物信息、大数据和多组学等；

影响力：[ESCI](#)、[PubMed](#)、[Google](#)、[Scopus](#)收录，IF **23.7**位列微生物学研究期刊全球第一；

时效性：外审平均21天；投稿至发表中位数66天；

“**iMetaomics**”主编赵方庆和于君教授，定位IF>10的高水平交叉学科综合期刊，欢迎投稿！



主页: <http://www.imeta.science>

出版社: <https://wileyonlinelibrary.com/journal/imeta>



投稿: <https://wiley.atyponrex.com/journal/IMT2>

<https://wiley.atyponrex.com/journal/IMO2>



office@imeta.science



宣传片



iMeta

