

纳米孔直接 RNA 测序与表观转录组：天然 RNA 全景图谱解析研究进展

张天缘^{1,2#,*}、李佳^{3#}、唐超^{4,5#}、吴优^{6#}、吴昊^{7#}、朱玺桐^{8#}、罗子阳^{9#}、秦航^{1#}、丁立山^{10,11#}、曾渝⁷、Shiou Yih Lee¹²、Xiaotao Shen^{13,14}、高石文³、田朝阳¹⁵、唐倩⁸、李冕¹⁶、Muhammad Tahir Ul Qamar¹⁷、董杨¹、Komivi Dossa^{18,19}、张亚萱¹、陈虎^{2*}、安三奇^{9*}、余祥^{6*}、陈路^{4*}、王定杰^{3,20*}、李胜利^{7*}、陈玲玲^{8,21*}、李岩强^{1*}

1 西安交通大学第一附属医院泌尿外科，中国西安

2 武汉贝纳基因研究院，中国武汉 3 武汉大学数学与统计学院，中国武汉

4 四川大学华西第二医院检验学科，中国成都

5 川北医学院基础医学院与法医学院基础医学研究所，中国南充

6 上海交通大学生命科学技术学院，中国上海

7 上海交通大学医学院附属上海市第一人民医院，中国上海

8 广西大学生命科学与技术学院，中国南宁

9 广西医科大学生命科学研究院、生物安全三级实验室，中国南宁

10 成都中医药大学药学院，中国成都

11 成都中医药大学本草基因组学研究院，中国成都

12 马来西亚英迪国际大学健康与生命科学学院，马来西亚森美兰

13 南洋理工大学李光前医学院，新加坡

14 南洋理工大学化学、化学生物工程与生物技术学院，新加坡南洋大道

15 香港启航基因科技有限公司，中国香港

16 山东第一医科大学与山东省医学科学院，生物医学科学学院与山东省医药生物技术中心，中国济南

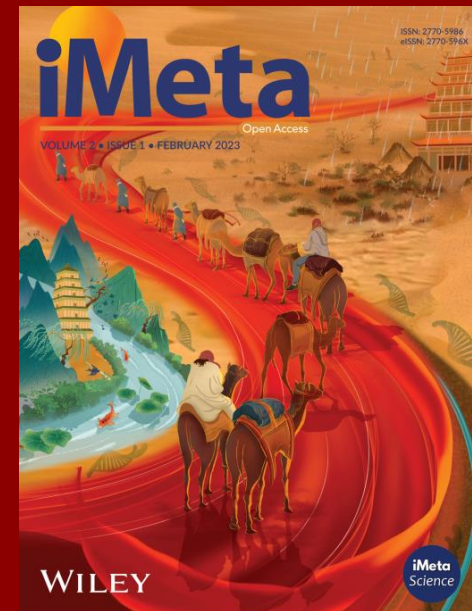
17 巴基斯坦费萨拉巴德政府学院大学生物信息学与生物技术系，巴基斯坦费萨拉巴德

18 法国国际发展农业研究中心，AGAP 联合研究所，法国瓜德罗普珀蒂堡

19 AGAP 联合研究所，法国国际农业研究与发展中心、法国国家农业食品与环境研究院、蒙彼利埃大学、法国国立高等农业教育学院联合研究单位，法国蒙彼利埃

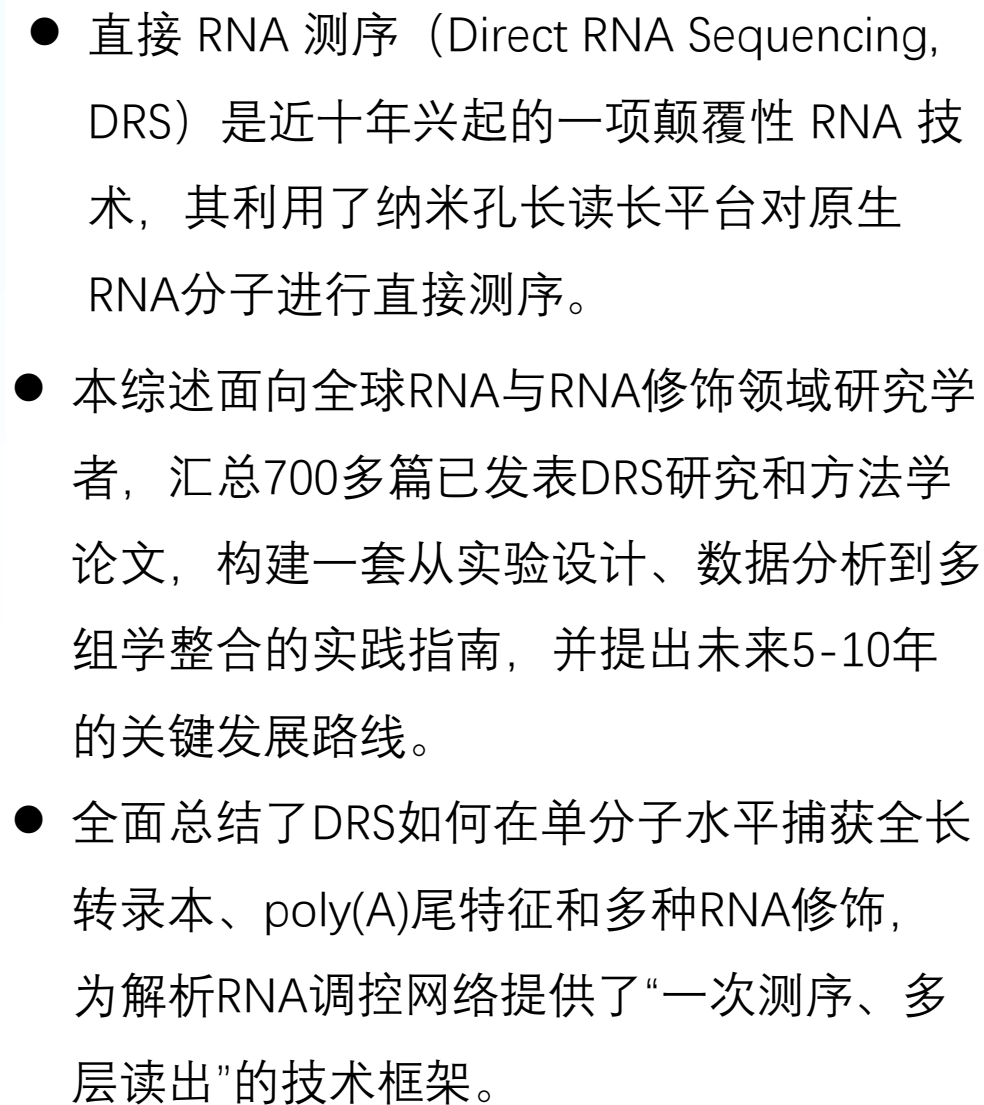
20 武汉大学数学与人工智能研究院，中国武汉

21 崖州湾国家实验室，中国三亚



Tianyuan Zhang, Jia Li, Chao Tang, You Wu, Hao wu, Xi-Tong Zhu, Ziyang Luo, et al. 2026. Nanopore direct RNA sequencing and the epitranscriptome: Advances in mapping native RNA landscapes. *iMeta* 5: e70136.

<https://doi.org/10.1002/imt2.70136>



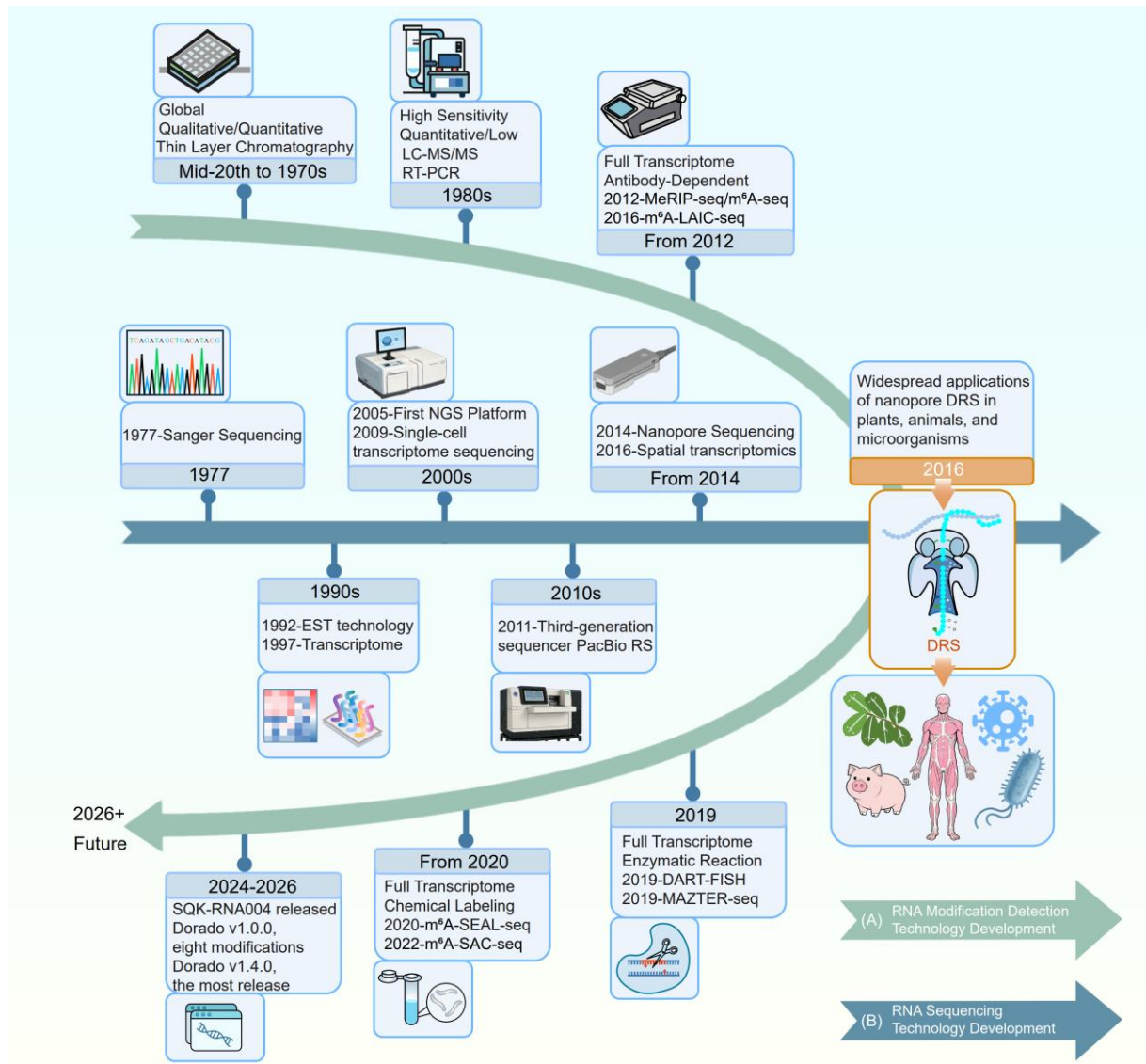


亮点

- 本文强调纳米孔直接 RNA 测序可在天然 RNA 单分子水平同时解析多层信息。
- 本文系统比较了纳米孔直接 RNA 测序与短读长、长读长及修饰特异性方法的异同。
- 本文采用任务导向的视角明确纳米孔直接 RNA 测序的优势。
- 本文提供了纳米孔直接 RNA 测序结果的可信度分级。
- 本文提出了分层的基准评估和验证框架。



纳米孔直接RNA测序的发展历程

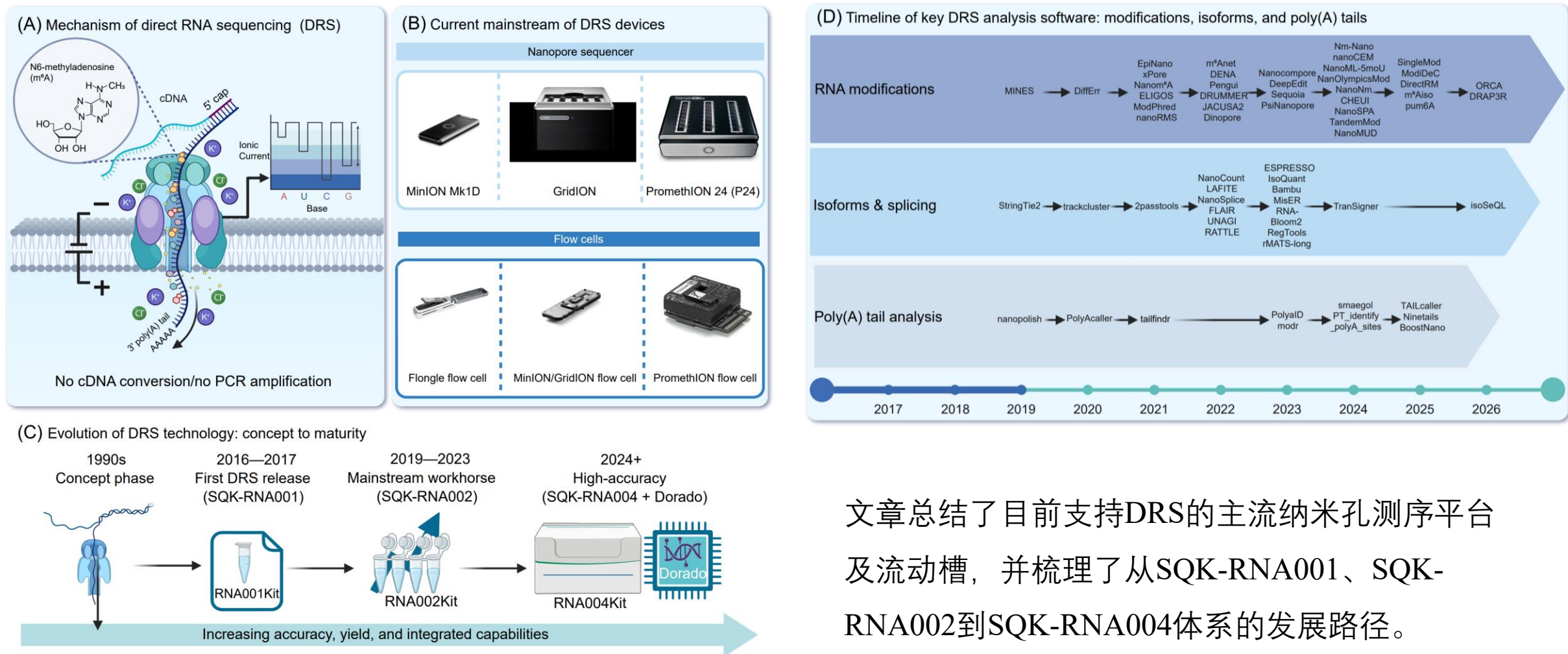


DRS的出现，使研究者能够在天然RNA分子上直接关联转录本结构、修饰信息和poly(A)尾特征。

图1. RNA测序和RNA修饰技术重大创新的时间线



牛津纳米孔直接 RNA 测序技术、测序平台及软件工具概述



文章总结了目前支持DRS的主流纳米孔测序平台及流动槽，并梳理了从SQK-RNA001、SQK-RNA002到SQK-RNA004体系的发展路径。

图2. 直接RNA测序技术、平台和软件概述



RNA 测序策略对比及纳米孔直接 RNA 测序的独特优势

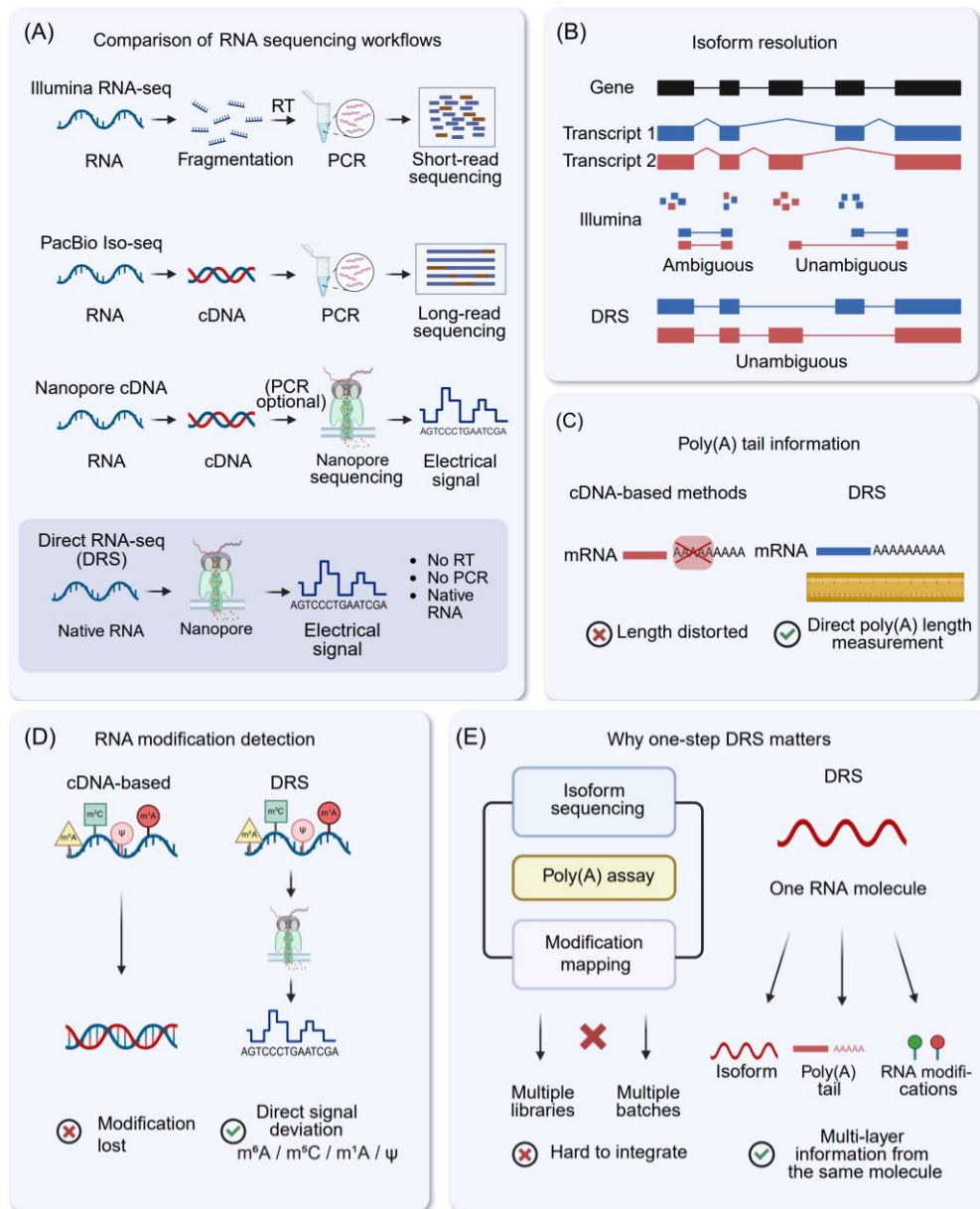


表 纳米孔DRS和其他RNA测序方法的面向场景的比较

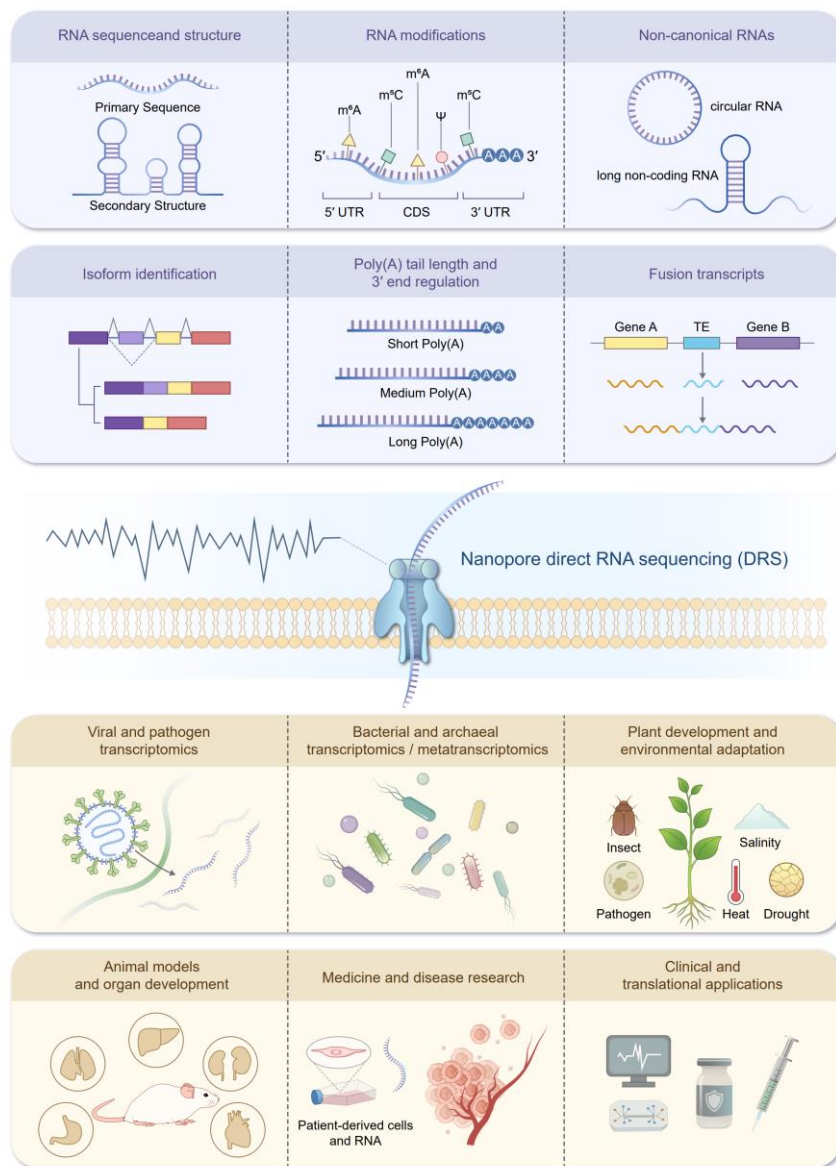
Application / research objective	NGS RNA-seq	ONT cDNA sequencing	PacBio Iso-Seq	Tail Iso-Seq	DRS
Large-scale gene expression quantification	+++	++	+	++	+
Differential gene expression analysis	+++	++	+	++	++
Isoform discovery / novel transcript annotation	+	+++	+++	+++	++
Isoform quantification	+++	++	++	++	+
Differential isoform usage / isoform switching	+	++	+++	++	++
Alternative splicing analysis	+	++	+++	++	+++
Fusion transcript detection	+	++	+++	++	+++
Allele-specific analysis	+	+++	+++	+++	+++
APA / 3' end usage analysis	+	++	++	+++	+++
Poly(A) tail length estimation	-	+	+	+++	+++
RNA modification profiling (m6A)	+	-	-	-	+++
RNA modification profiling (non-m6A)	+	-	-	-	++
Simultaneous analysis of isoform structure, poly(A), and RNA modifications on the same molecule	-	-	-	+	+++
Low-input or limited clinical samples	+++	++	++	++	+
Very short RNAs / small RNAs	+++	+	+	+	-
High-accuracy reference transcriptome construction	+	++	+++	++	++
Cost-sensitive population-scale studies	+++	++	+	++	+

Scoring system: +++, preferred; ++, suitable; +, possible but with notable limitations; -, generally not preferred.

图3. RNA测序策略及DRS所捕获特征的比较



直接RNA测序的优势及其生物学应用

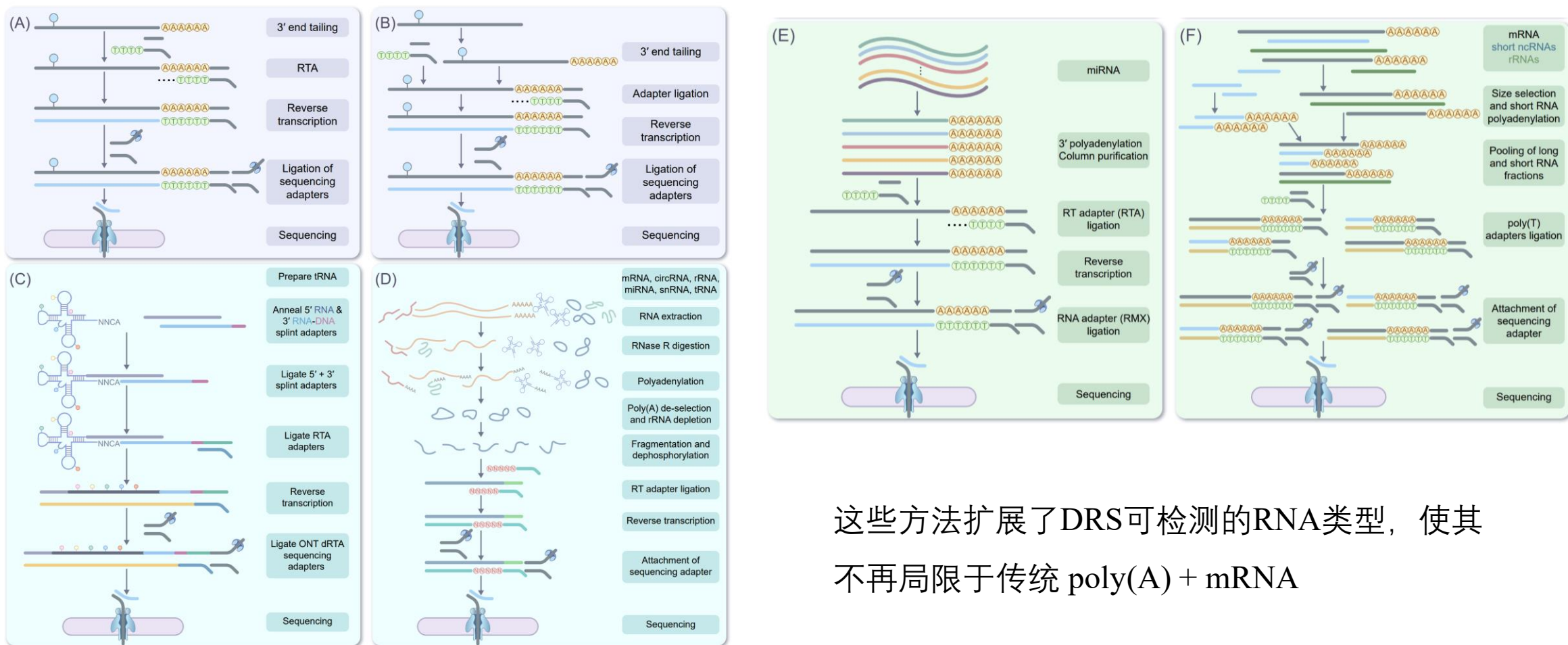


DRS可用于解析病毒和病原体转录组、细菌和古菌转录组、植物发育与环境响应、动物器官发育、疾病相关RNA调控以及RNA药物质量控制等场景。特别是在病毒、癌症、植物逆境响应和RNA治疗领域，DRS能够提供传统方法难以获得的天然RNA多层信息。

图4. 直接RNA测序的优势以及生物学应用



各种类型的RNA直接测序实验流程



这些方法扩展了DRS可检测的RNA类型，使其不再局限于传统 poly(A) + mRNA

图5. 各种类型的RNA直接测序实验流程



牛津纳米孔直接 RNA 测序数据分析及下游应用的端到端计算分析流程

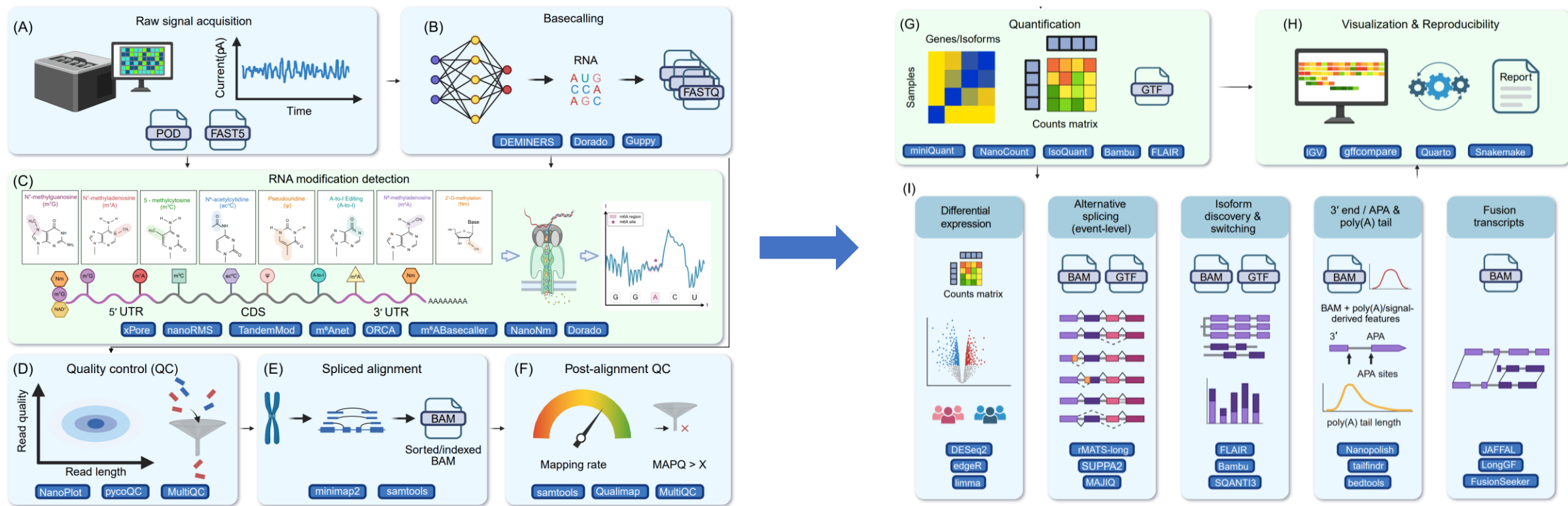


图6. 直接RNA测序数据分析及下游应用的端到端计算流程



常用于直接 RNA 测序研究的代表性高阶分析可视化图谱

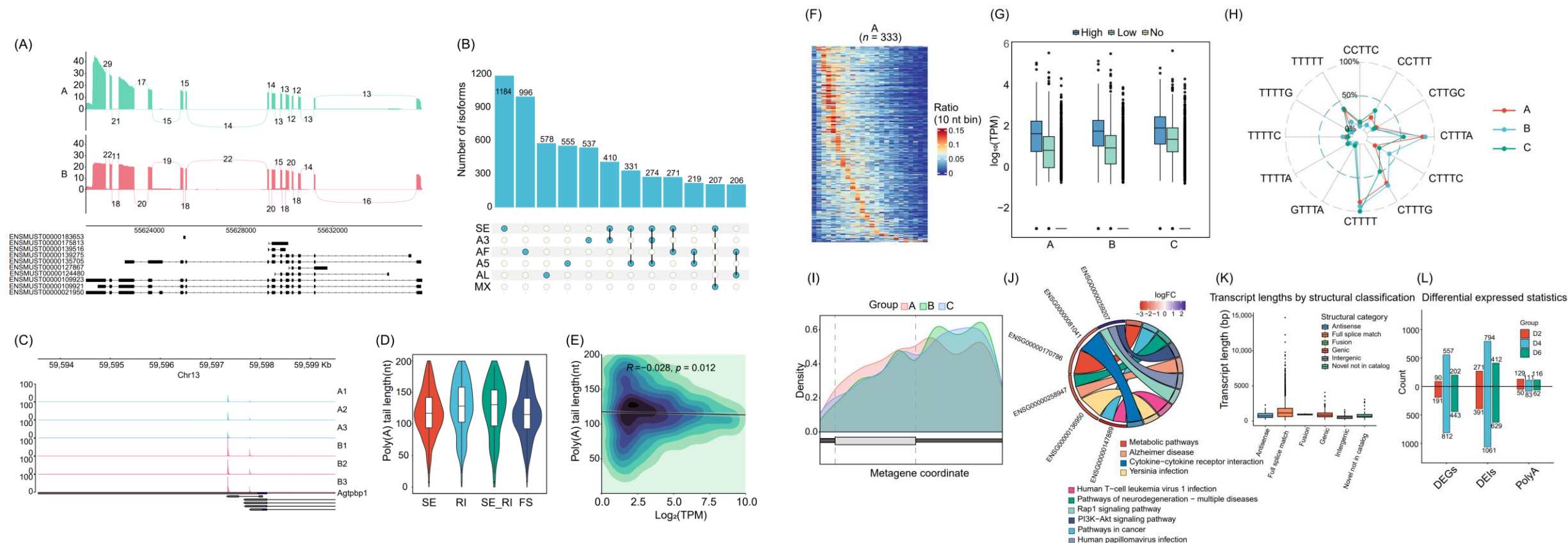
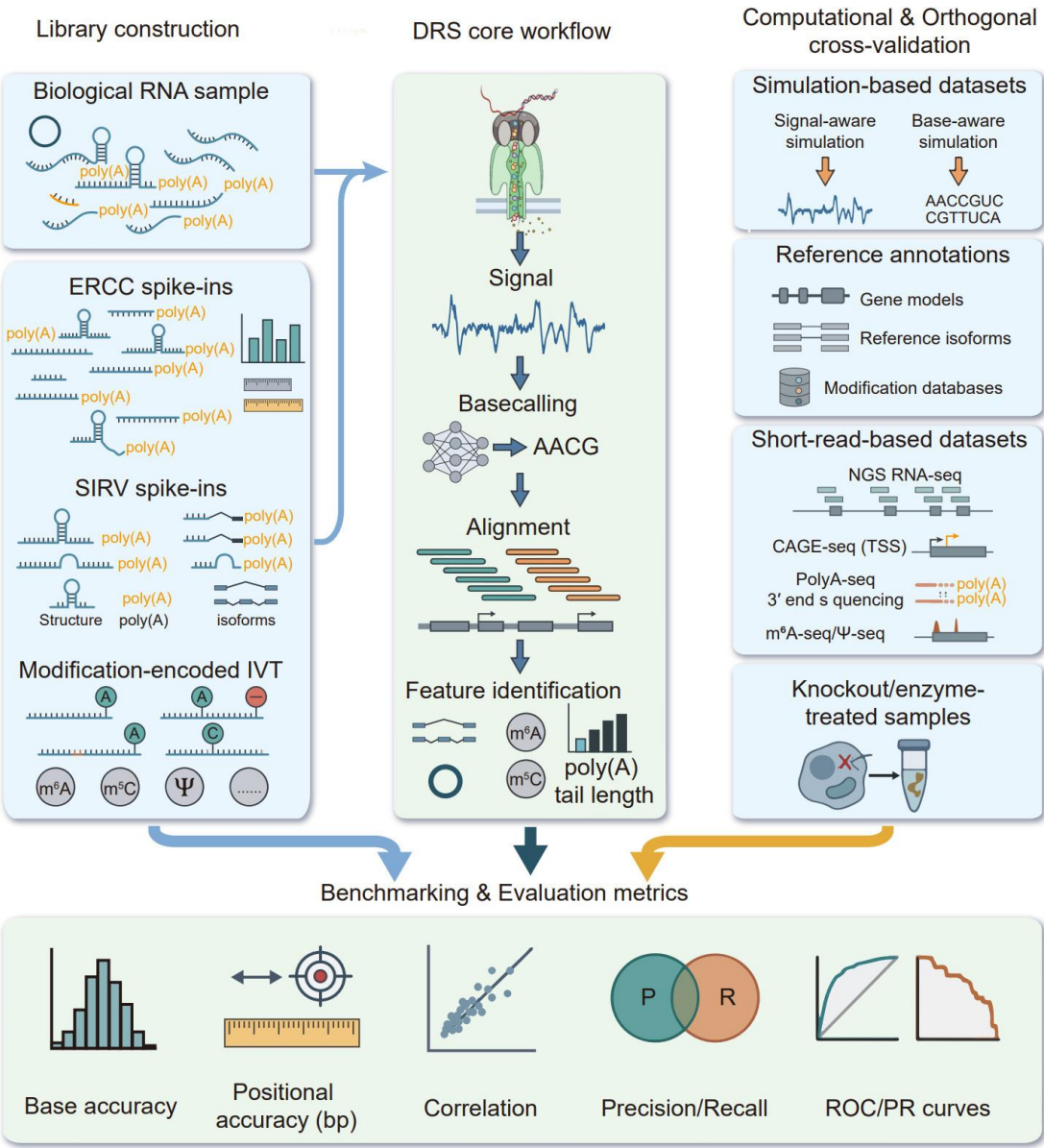


图7. 直接RNA测序研究中常用分析可视化图谱



DRS 的实验设计与多层次基准评估框架

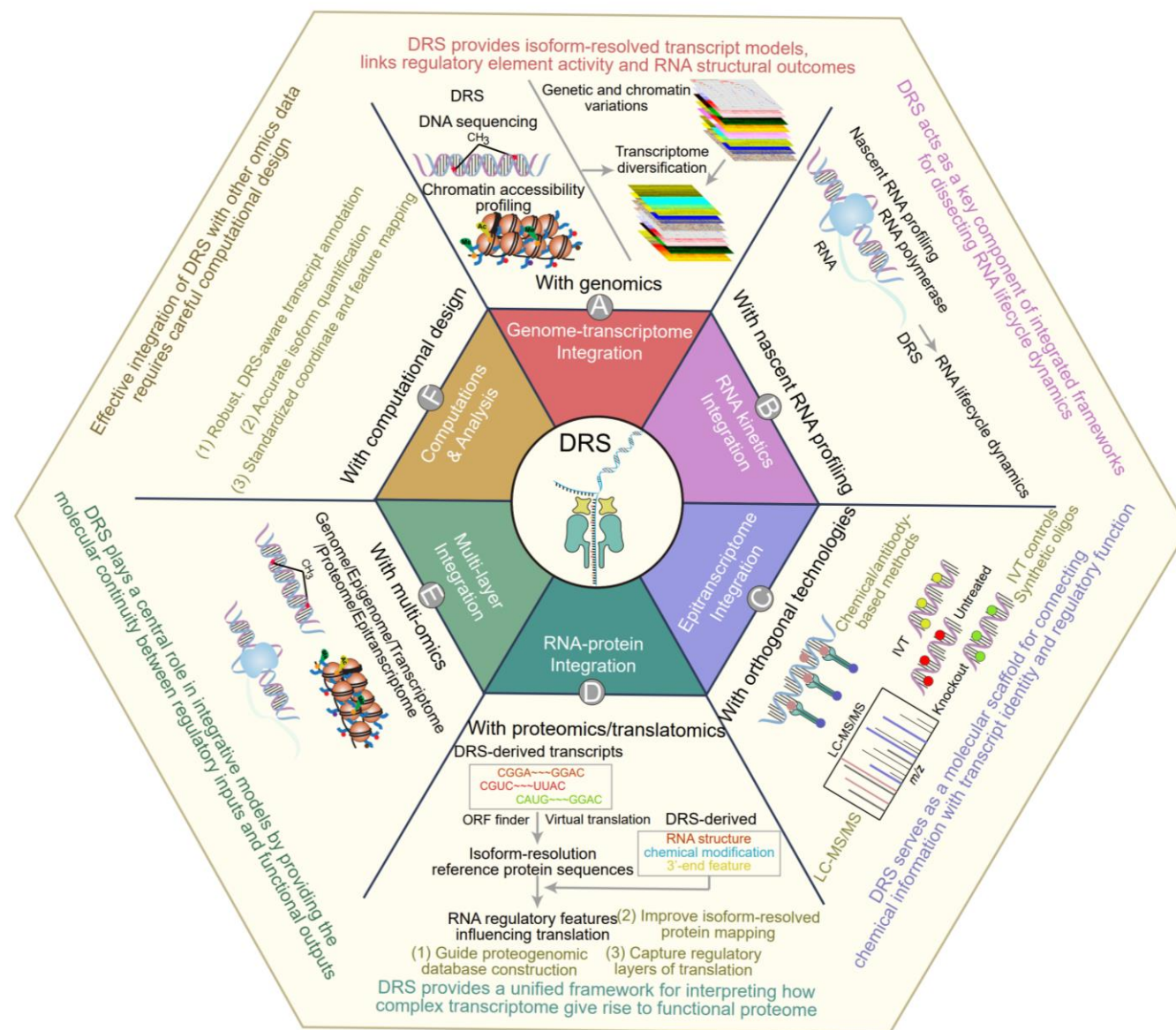


由于DRS研究横跨原始电流信号、碱基识别、比对、转录本重构、poly(A)尾估计和RNA修饰检测等多个分析层级，标准化和验证尤为关键。文章提出，应结合ERCC、SIRV、修饰编码IVT spike-in、模拟数据、参考注释、短读长测序、5'/3'端测序、敲除或酶处理样本等多类证据，对DRS分析结果进行多层基准评估。不同任务应采用不同指标，如碱基准确率、位置准确性、相关性、precision/recall、ROC/PR曲线和重复间一致性等。

图8. 直接RNA测序的实验设计与多层次基准评估框架



纳米孔直接 RNA 测序：多组学整合的核心枢纽



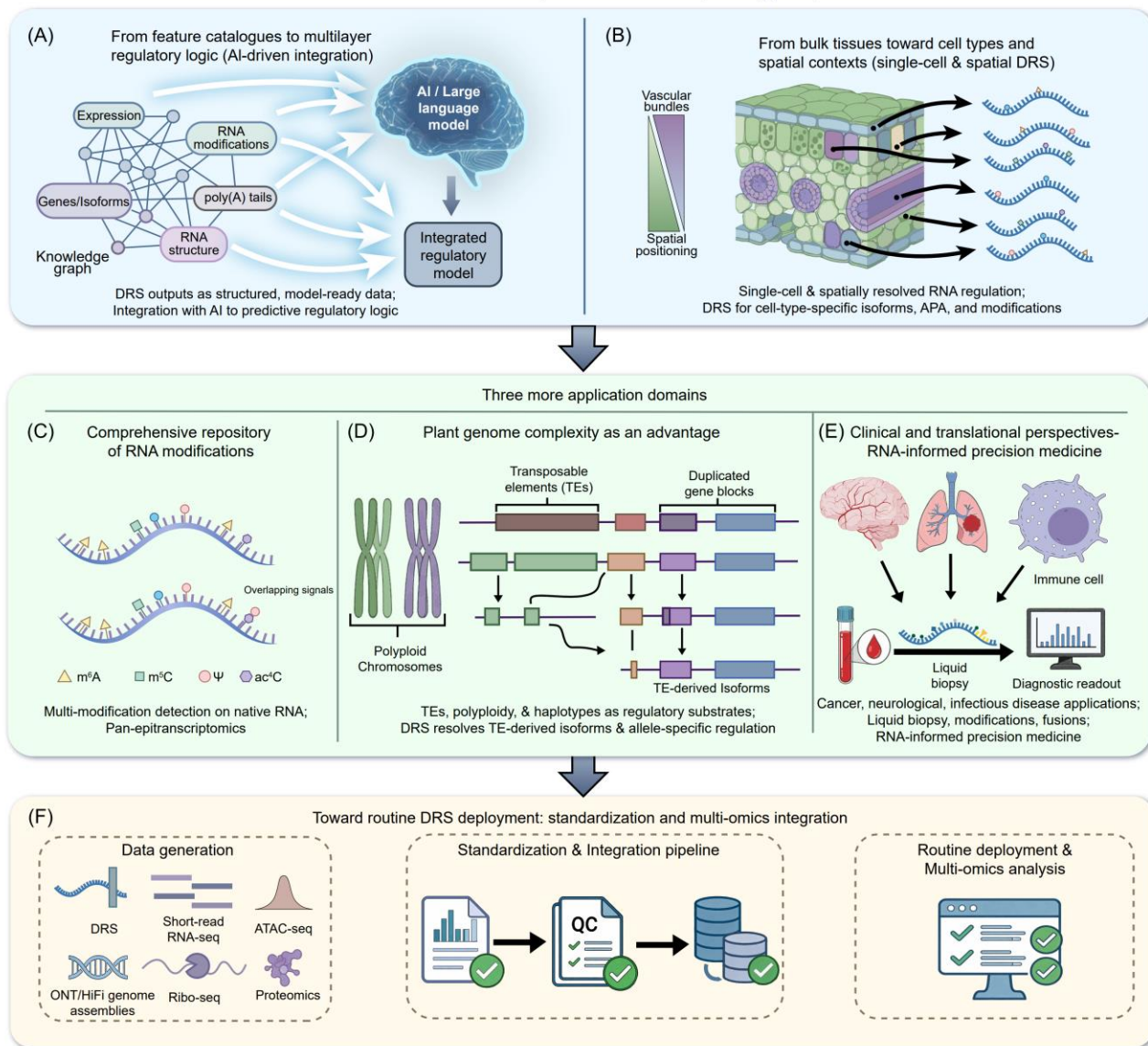
通过与DNA测序、ATAC-seq、短读长RNA-seq、代谢标记、LC-MS/MS、核糖体测序和蛋白质组学整合，DRS有望帮助研究者从基因组变异和染色质状态出发，追踪到RNA加工、RNA修饰、翻译效率和蛋白质输出，构建更加完整的RNA中心调控网络。

图9. 直接RNA测序的优势以及生物学应用



纳米孔直接 RNA 测序的研究展望

Future Directions of Nanopore Direct RNA Sequencing (DRS)



- DRS仍面临样本输入量高、短RNA检测不足、5'端覆盖不完整、测序错误率较高、修饰识别依赖模型和标准化不足等挑战。
- 通过硬件优化、算法改进、参考标准建设和正交验证可显著提升可靠性。

图10. 纳米孔直接RNA测序的未来展望



在线电子书和代码地址

Nanopore DRS guide

Preface

Research Highlight

Introduction

Nanopore direct RNA sequencing: fundamental principles and developmental trajectory

Comparative analysis of DRS technology and traditional sequencing technology

The biological landscape from a DRS perspective

Typical application scenarios and breakthrough discoveries of DRS technology

Design, standardization and optimization of DRS workflows

DRS data analysis

Designing, validating, and benchmarking DRS: an integrated framework

Application-oriented integration of nanopore DRS with multi-omics

Challenges and technical improvements of DRS

Outlook: toward integrative, haplotype-

/ Preface

Preface

RNA regulation is central to gene expression, encompassing RNA modifications, transcript architecture, alternative splicing, and poly(A) tail dynamics. Conventional sequencing depends on cDNA synthesis, which fragments RNA and uncouples these regulatory layers. In contrast, nanopore direct RNA sequencing (DRS) uniquely enables high throughput native RNA sequencing, preserving full length transcripts, RNA modifications, and poly(A) features simultaneously. Despite rapid advances, the field still lacks a comprehensive, unified review that connects technology, computation, and applications.

This supplement to the review "Nanopore Direct RNA Sequencing and the Epitranscriptome: Toward a Complete Map of RNA Regulation" is inspired by technical field guides that aim to make a rapidly evolving technology accessible and detail to further understanding of the exhibits.

Research Highlight

- Overview of nanopore direct RNA sequencing principles and evolution.

Published

Examples of analytical visualizations commonly used in Nanopore Direct RNA seq... (Tianyuan Zhang)

Published v1.0

Edit Capsule

Capsule File Help

Sign up or login to edit and run

Core Files

Metadata

Files

environment

code

data

01.AS_Plot

02.AS_Transcript_Statistics

03.IGV_Visualization_of_APA...

04.AS_and_Poly(A)_Length...

05.Counts_and_Poly(A)_Le...

06.Sample-wise_Poly(A)_Le...

07.GOplot

08.DEG_DEI_Statistical_Bar...

09.SQANTI3_Statistics_Plots

10.Modification_Site_Density...

11.Modification_and_TPM_Re...

12.Modification_Motif_Radar...

.Rhistory

capsule.Rproj

LICENSE

run.sh

01.AS_Plot

02.AS_Transcript_Statistics

03.IGV_Visualization_of_AP...

04.AS_and_Poly(A)_Lengt...

05.Counts_and_Poly(A)_Le...

06.Sample-wise_Poly(A)_L...

07.GOplot

08.DEG_DEI_Statistical_Bar_C...

09.SQANTI3_Statistics_Plots

Bioinformatics

Examples of analytical visualizations commonly used in Nanopore Direct RNA sequencing (DRS) studies

Tianyuan Zhang

Examples of analytical visualizations commonly used in Nanopore Direct RNA sequencing (DRS) studies. The code and data will continue to be updated in the future, which has helped researchers analyze DRS research data

nanopore direct RNA sequencing DRS RNA-seq epitranscriptome

Capsule

DOI

Citation

Licenses

Authors

Associated Publication

Title

10.24433/CO.3183037.v1

General

Tianyuan Zhang (2026) Examples of analytical visualizations commonly used in Nanopore Direct RNA sequencing (DRS) studies [Source Code].
<https://doi.org/10.24433/CO.3183037.v1>

Code MIT license Data Attribution (CC BY)

Tianyuan Zhang Benagen Institute

yet to be published

Nanopore direct RNA sequencing and the epitranscriptome: Advances in mapping native RNA landscapes

Reproducible Run

Timeline

Search All

May 15, 2026 03:40

Published Version 1.0

Currently viewing

Author ran on May 15, 2026 03:40

Published Result 122.43 MB

01.AS_Plot

02.AS_Transcript_Statistics

03.IGV_Visualization_of_APA_G...

04.AS_and_Poly(A)_Length_Joi...

05.Counts_and_Poly(A)_Lengt...

06.Sample-wise_Poly(A)_Lengt...

07.GOplot

08.DEG_DEI_Statistical_Bar_Ch...

09.SQANTI3_Statistics_Plots

10.Modification_Site_Density_A...

11.Modification_and_TPM_Relati...

12.Modification_Motif_Radar_C...

output 39.14 KB

Tianyuan Zhang committed May 15, 2026 03:39

Version 1.0

May 15, 2026 03:39 Created Capsule

在线电子书: https://zhangtianyuan666.github.io/DRS_doc

代码地址: <https://doi.org/10.24433/CO.3183037.v1>

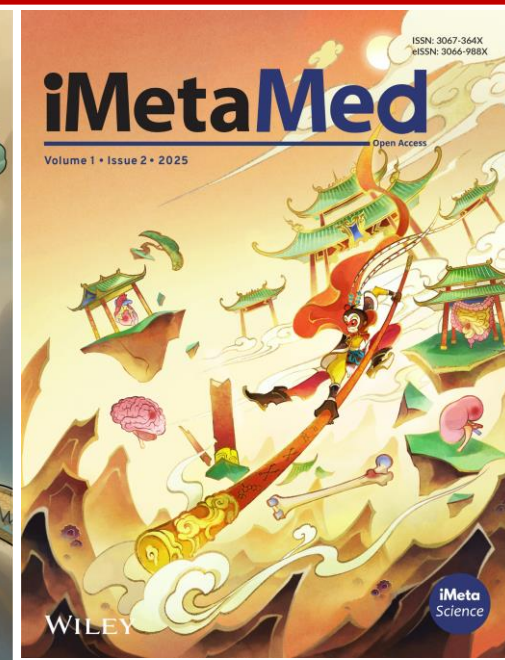
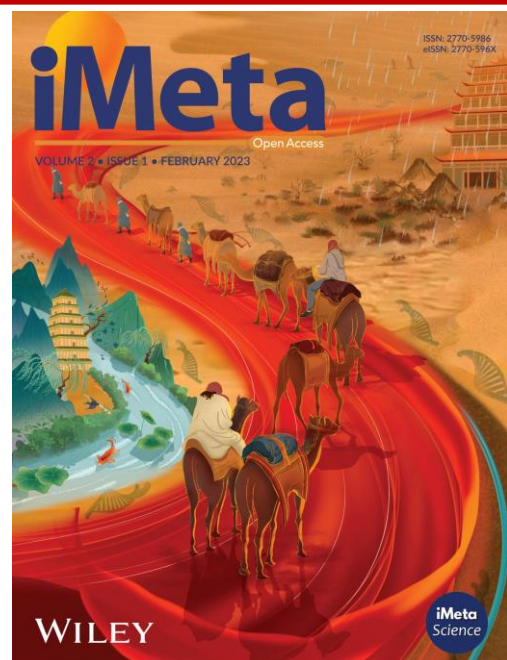


总结

- ❑ 纳米孔直接 RNA 测序凭借天然 RNA 单分子长读长测序优势，推动转录组学从单一表达分析走向多层信息整合。
- ❑ 直接 RNA 测序在复杂转录组研究、疾病特征挖掘及多组学整合领域具备广阔应用前景。
- ❑ DRS 的可靠应用仍需要合理的实验设计、完善的计算分析流程、先进的分析工具、证据分级解读以及多层次基准评估和验证体系。在实际研究中，应重点从“适用场景、结果可信度和验证策略”三个方面进行综合判断。

Tianyuan Zhang, Jia Li, Chao Tang, You Wu, Hao wu, Xi-Tong Zhu, Ziyang Luo, et al. 2026. Nanopore direct RNA sequencing and the epitranscriptome: Advances in mapping native RNA landscapes. *iMeta* 5: e70136.

<https://doi.org/10.1002/imt2.70136>



iMeta(宏)期刊由宏科学创办，对标**Cell**的生物/医学综合期刊，**SCIE**、**PubMed**收录，影响因子(IF)44.4，位列全球第47，中国第4，**分区表生物学1区Top**，外审平均21天，投稿至发表中位数87天(比同水平期刊快3倍)，欢迎高影响力的研究、方法和综述投稿，CNS外审稿件可带意见和回复转投。

iMetaOmics (宏组学)，定位IF>15对标**NC/SA**的生物/医学综合期刊，已被**ESCI**、**PubMed**等收录。

iMetaMed (宏医学)定位IF>15的医学综合期刊，欢迎投稿！



主页: <http://www.imeta.science>

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



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

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

iMetaMed: <https://wiley.atyponrex.com/journal/IMM3>



office@imeta.science

imetaomics@imeta.science



宣传片



[iMeta](#)



更新日期
2026/6/17