

应用CycloneSEQ纳米孔测序技术快速重建多重耐药菌基因组

彭凯^{1,2}, 童泽宇^{1,2}, 李长安^{1,2}, 李智超^{1,2}, 卢昕³, Cemil Kurekci^{4,5},
Mashkoor Mohsin⁶, 王志强^{1,2*}, 刘永鑫^{7*}, 李瑞超^{1,2*}

¹扬州大学兽医学院, 江苏高校动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心

²扬州大学比较医学研究院

³中国疾病预防控制中心传染病预防控制所

⁴穆斯塔法凯末尔大学动物医学院

⁵杜库斯埃勒大学动物医学院微生物学系

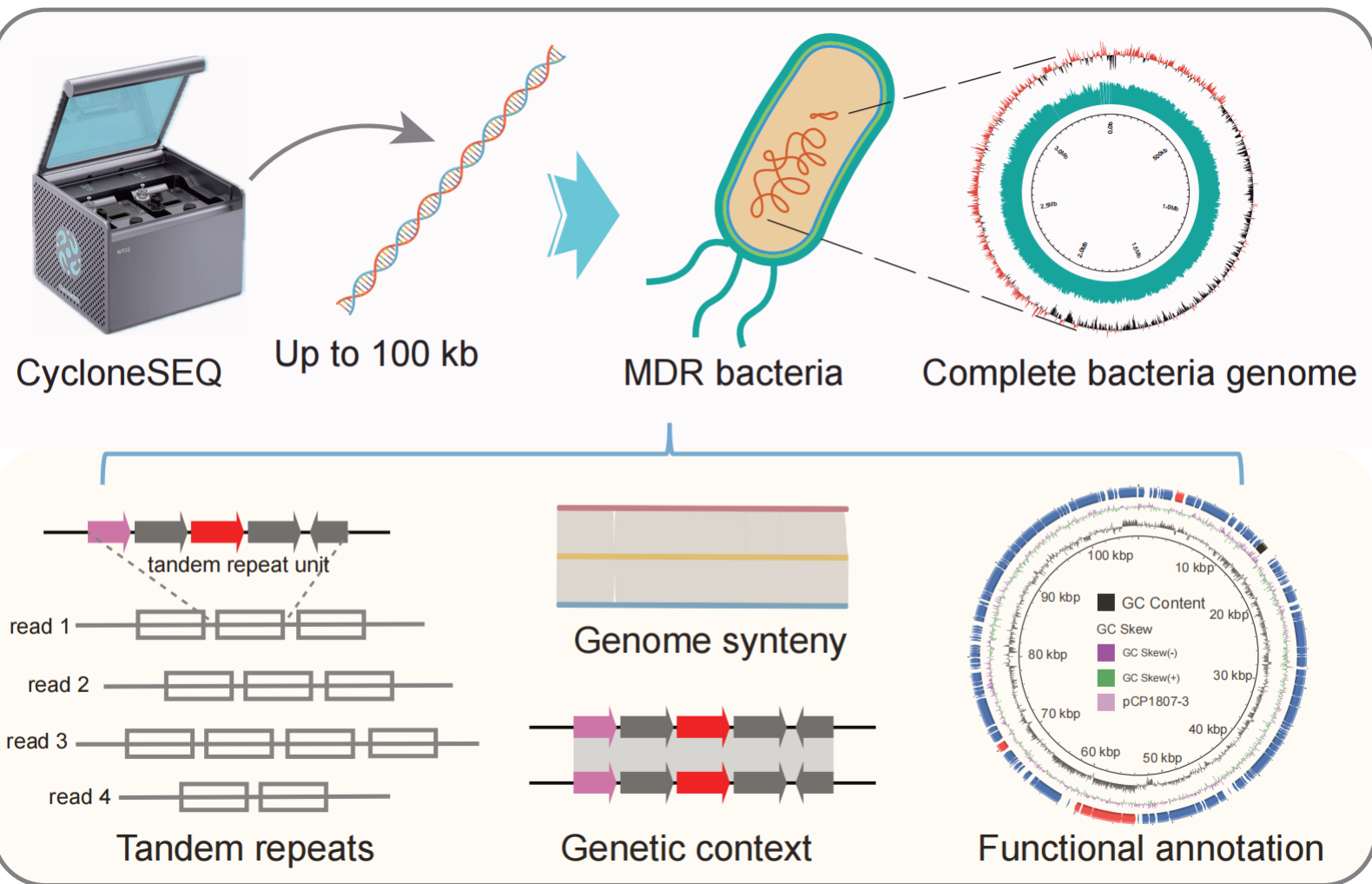
⁶费萨拉巴德农业大学微生物研究所

⁷中国农业科学院深圳农业基因组研究所



Kai Peng, Zeyu Tong, Changan Li, Zhichao Li, Xin Lu, Cemil Kurekci, Mashkoor Mohsin, et al. 2025.
Rapid reconstruction of multidrug resistant bacterial genomes using CycloneSEQ nanopore sequencing.
iMetaOmics 2: e70060. <https://doi.org/10.1002/imo2.70060>

简介



- 多重耐药菌通常具有复杂的基因组结构，携带质粒、整合性接合元件、整合子和转座子等可移动元件；
- 传统的短读测序技术由于测序读长限制无法清晰解析多重耐药菌的精细基因组结构；
- 华大CycloneSEQ纳米孔测序技术的出现极大的提高了多重耐药菌基因组解析效率。

CycloneSEQ数据特征及组装基因组评估

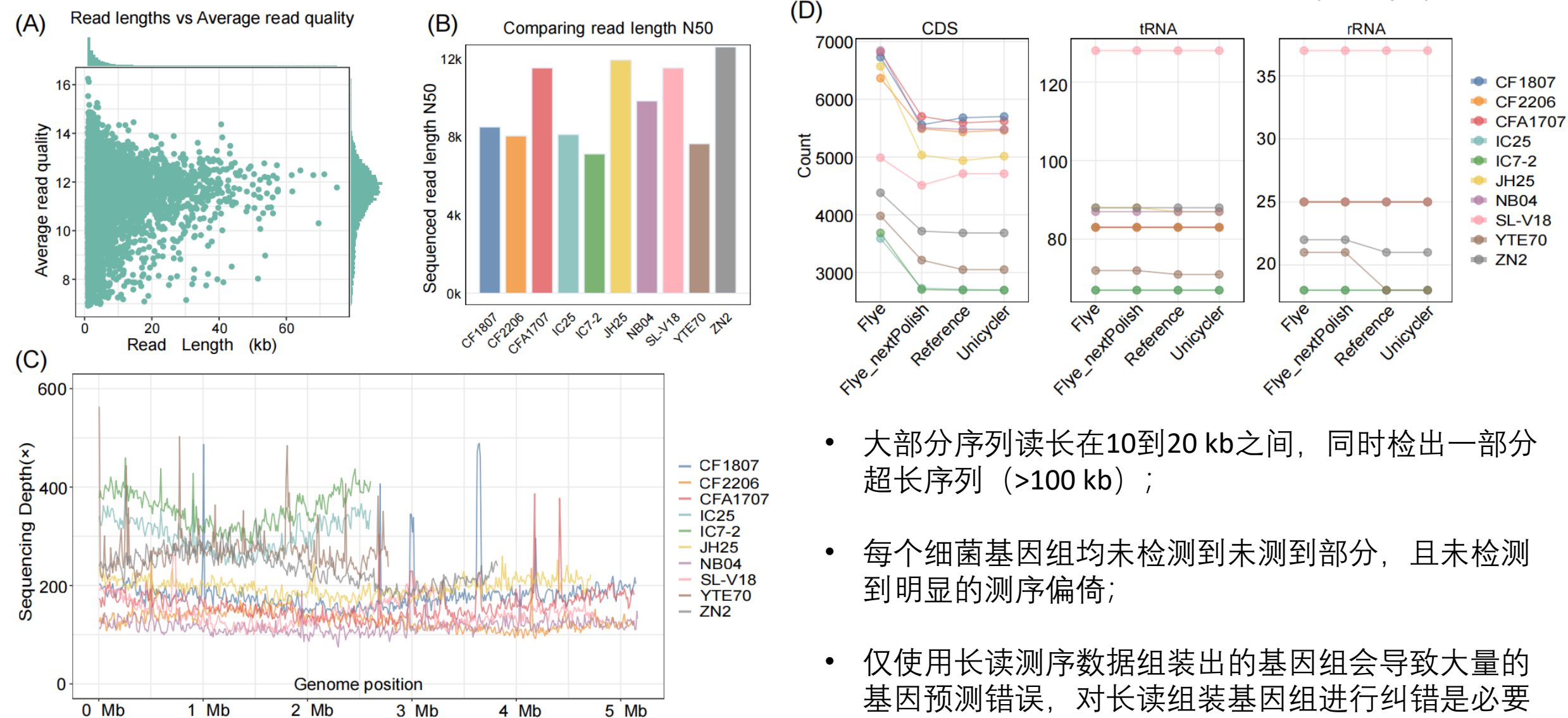


图1. CycloneSEQ数据特征及组装基因组评估结果

- 大部分序列读长在10到20 kb之间，同时检出一部分超长序列 (>100 kb)；
- 每个细菌基因组均未检测到未测到部分，且未检测到明显的测序偏倚；
- 仅使用长读测序数据组装出的基因组会导致大量的基因预测错误，对长读组装基因组进行纠错是必要的。

测序深度对基因组组装和组装基因组准确度的影响

Depth	100x	50x	30x	20x	15x	10x	5x
flye							
Contigs	7	5	7	5	5	18	59
Misassemblies	3	4	1	4	2	3	4
Misassembled contigs length	30484	53636	21582	53628	35719	1858420	364086
Mismatches per 100 kbp	1.48	2.13	2.98	4.61	9.28	68.81	316.23
Indels per 100 kbp	59.9	43.59	53.72	75.95	109.98	260.88	796.87
Accuracy	99.939%	99.954%	99.943%	99.919%	99.881%	99.670%	98.887%
Misassembled contigs length (nextpolish)	30505	53652	21590	53641	35735	1859761	363771
mismatches per 100 kbp (nextpolish)	1.48	2.06	2.03	2.83	4.25	30.93	45.89
indels per 100 kbp (nextpolish)	0.56	0.98	2.14	4.22	4.67	42.47	69.03
Total length (nextpolish)	2843173	2864705	2855402	2864695	2846617	2869973	2508344
Accuracy (nextpolish)	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
Depth	100x	50x	30x	20x	15x	10x	5x
unicycler							
Contigs	6	6	6	6	6	6	6
Misassemblies	0	0	0	0	0	0	0
Misassembled contigs length	0	0	0	0	0	0	0
Mismatches per 100 kbp	0	0	0	0	0	0.04	0
Indels per 100 kbp	0	0	0	0	0	0.04	0
Accuracy	100%	100%	100%	100%	100%	99.992%	100%

- 仅使用测序深度为15×的纳米孔长读测序数据即可获得完整的细菌基因组，准确率为98.88%；
- 测序深度超过50×之后，组装基因组的准确度不再随测序深度增加进一步的提高；
- 混合组装策略下，仅需5×的长读测序深度即可获得完整、准确的细菌基因组。

解析MDR细菌基因组中复杂遗传结构的能力

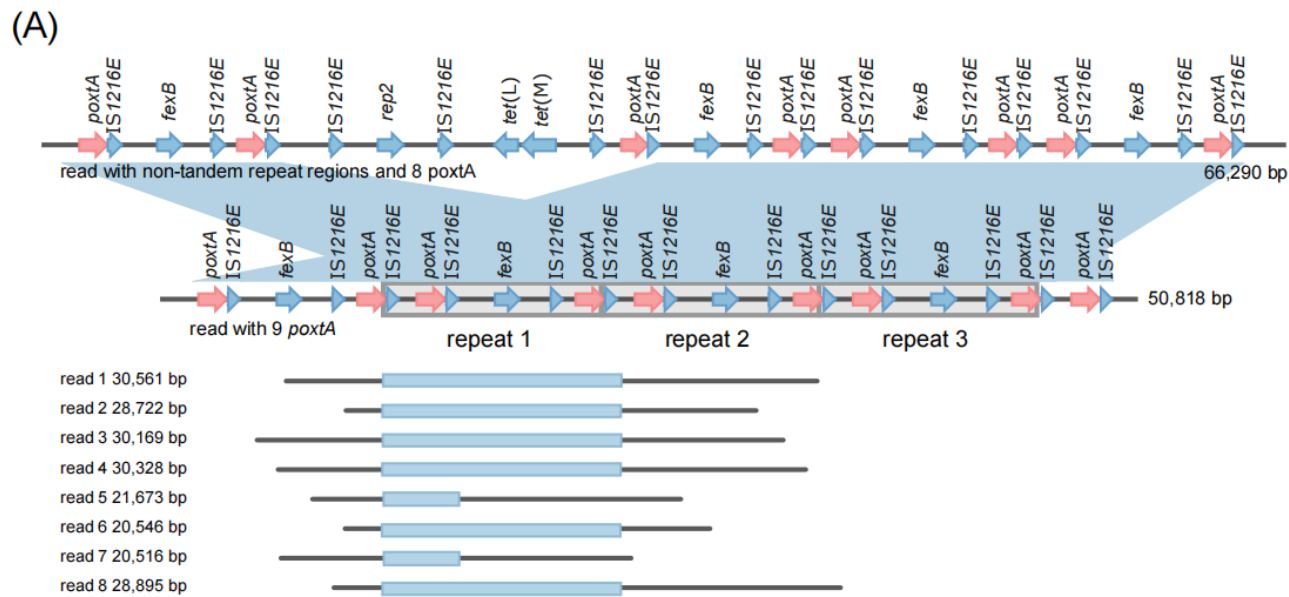
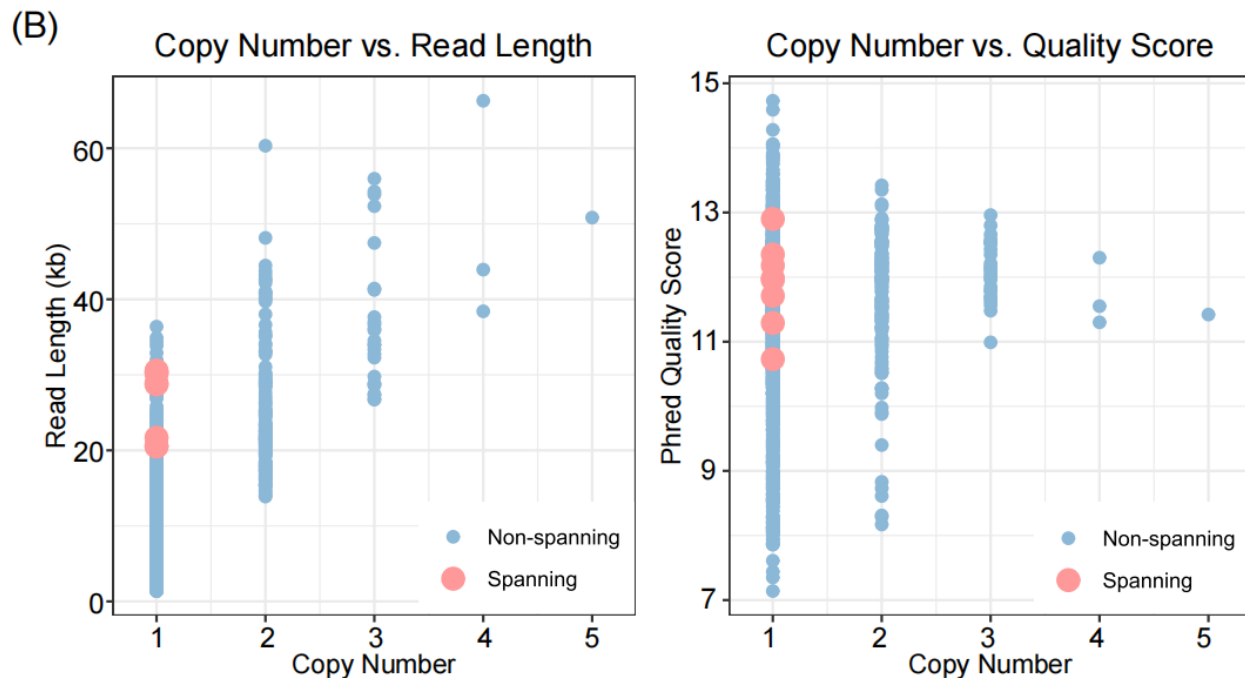


图2. CycloneSEQ数据
在解析耐药基因串联重复
结构与异质性方面的能力



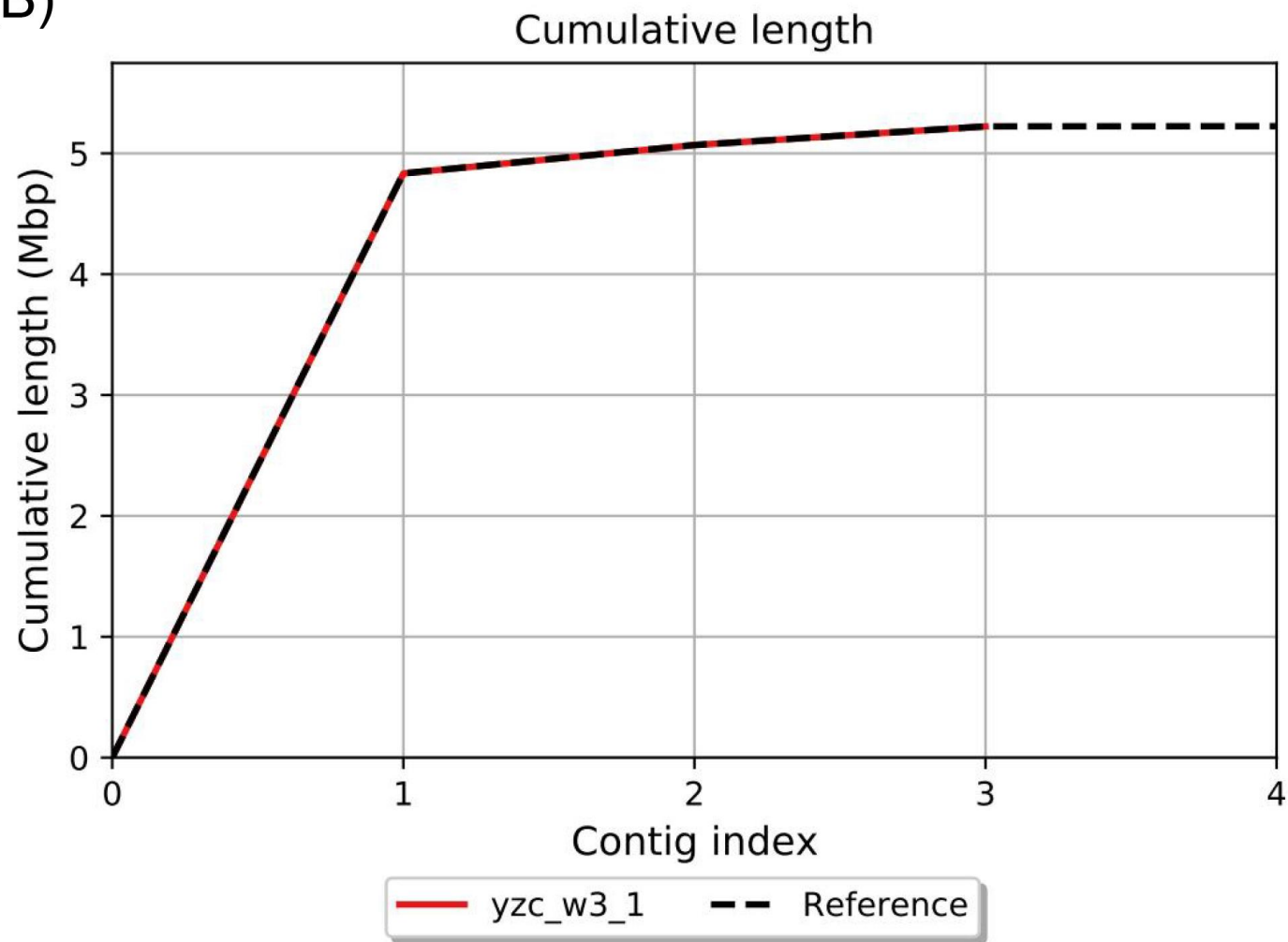


CycloneSEQ测序准确度的提升

(A)

Genome statistics		yzc_w3_1
Genome fraction (%)		99.969
Duplication ratio		1
Largest alignment		4 833 716
Total aligned length		5 222 882
NGA50		4 833 716
LGA50		1
Misassemblies		
# misassemblies		0
Misassembled contigs length		0
Mismatches		
# mismatches per 100 kbp		8.9
# indels per 100 kbp		14.7
# N's per 100 kbp		0
Statistics without reference		
# contigs		3
Largest contig		4 833 716
Total length		5 222 882
Total length (>= 1000 bp)		5 222 882
Total length (>= 10000 bp)		5 222 882
Total length (>= 50000 bp)		5 222 882

(B)

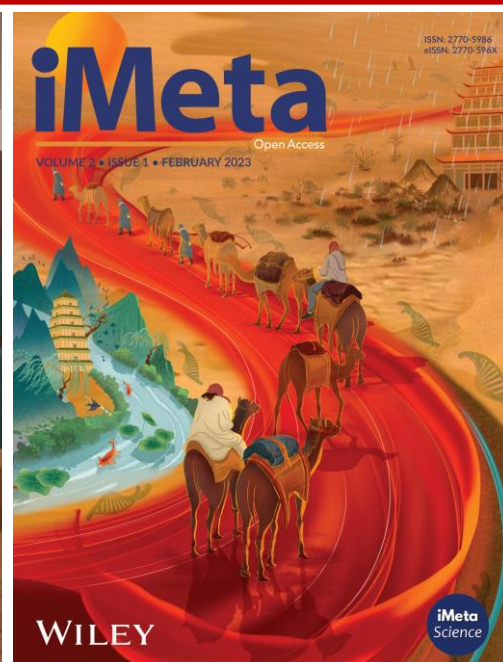
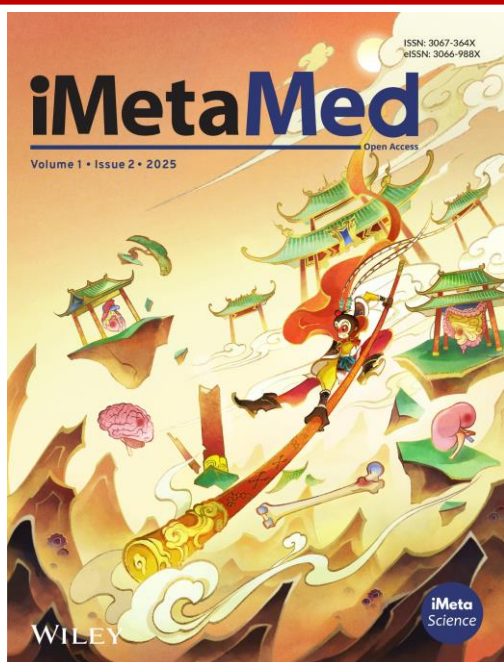


仅使用CycloneSEQ序列组装的基因组没有错误的片段组装，只有少量的碱基错配，总体准确度达到了99.98%。

总结

- ❑ 在这项研究中，我们全面评估了CycloneSEQ纳米孔测序平台在多重耐药细菌基因组解析中的应用；
- ❑ 证明了CycloneSEQ长读测序数据能够重建近乎完整的细菌基因组，解析复杂的遗传结构，并提高混合组装的质量；
- ❑ 使用技术革新后的CycloneSEQ测序平台能在无需短读序列的纠错的情况下，组装出完整且高度准确的多重耐药细菌基因组。

Kai Peng, Zeyu Tong, Changan Li, Zhichao Li, Xin Lu, Cemil Kurekci, Mashkoor Mohsin, et al. 2025. Rapid reconstruction of multidrug resistant bacterial genomes using CycloneSEQ nanopore sequencing. *iMetaOmics* 2: e70060. <https://doi.org/10.1002/imo2.70060>



iMeta(宏)期刊是由宏科学、千名华人科学家和威立共同出版，对标**Cell**的生物/医学类综合期刊，主编刘双江和傅静远教授，欢迎高影响力的研究、方法和综述投稿，重点关注生物技术、大数据和组学等前沿交叉学科。已被**SCIE**、**PubMed**等收录，最新IF 33.2，位列全球SCI期刊第65位(前千分之三)，中国第5位，微生物学研究类全球第一，中科院生物学双1区Top。外审平均21天，投稿至发表中位数87天。

子刊**iMetaOmics** (宏组学)、**iMetaMed** (宏医学)定位IF>10和15的生物、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
2025/7/6