

Применение Oxford Nanopore Technologies для анализа респираторной микробиоты

Кривонос Данил Вадимович

Студент (магистр)

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Факультет биотехнологии и промышленной экологии (БПЭ), Москва, Россия

E-mail: danil01060106@gmail.com

Бактерии являются неотъемлемыми спутниками жизни человека. Они присутствуют как в окружающем нас мире, так и в нас самих. Повышение доступности технологий секвенирования нового поколения позволило нам не просто изучать свойства отдельных организмы, но и изучать особенности устойчивых микробных сообществ. Так получило развитие такое направление, как метагеномика, которая занимается исследованием различных микробных композиций. Долгое время стандартом метагеномики считалось секвенирование ампликона 16S рРНК с помощью коротких ридов Illumina. Все большую популярность в мире секвенирования набирает технология Oxford Nanopore(ONT).

ONT обладает рядом преимуществ, во-первых, это повышенная доступность сравнительно с аналогами, во-вторых, это размеры получаемых ридов, длина которых может полностью покрыть как участок V3-V4, так и всего 16S рРНК кластера. Несмотря на все преимущества нанопорового секвенирования, существует ряд трудностей, которые не позволяют использовать ONT, как абсолютную альтернативу Illumina в метагеномных исследованиях. Прежде всего это связано с низким качеством ридов, значительно уступающих Illumina, что дополнительно осложняется низким микробным разнообразием в образце. Примером такого сообщества, с низким разнообразием, является респираторный микробиом.

Нами были предложены два подхода для исследования респираторной микробиоты человека посредством анализа данных нанопорового секвенирования ампликона V3-V4 участков 16S рРНК. Первый вариант основан на прямом картировании ридов на базу SILVA с предварительной фильтрацией по длине и качеству[1]. Данный подход показал хорошую сходимость с результатами секвенирования на Illumina($R2 > 0.8$).

Второй подход заключается в кластеризации ридов с последующим созданием консенсуса кластера, который в свою очередь картируется на базу SILVA. Таким образом, консенсус определяет какому роду принадлежит рид. Такой подход должен решить проблему большого числа ошибок, полученных в ходе секвенирования.

Источники и литература

- 1) Quast C. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools //Nucleic acids research. – 2012. – Т. 41. – №. D1. – С. D590-D596.