

Metagenomic: Giải trình tự 16s rRNA và Shotgun, từ tách chiết mẫu đến giải trình tự

Trình bày: Nguyễn Văn Chiến – Suran's Company



Tổng quan

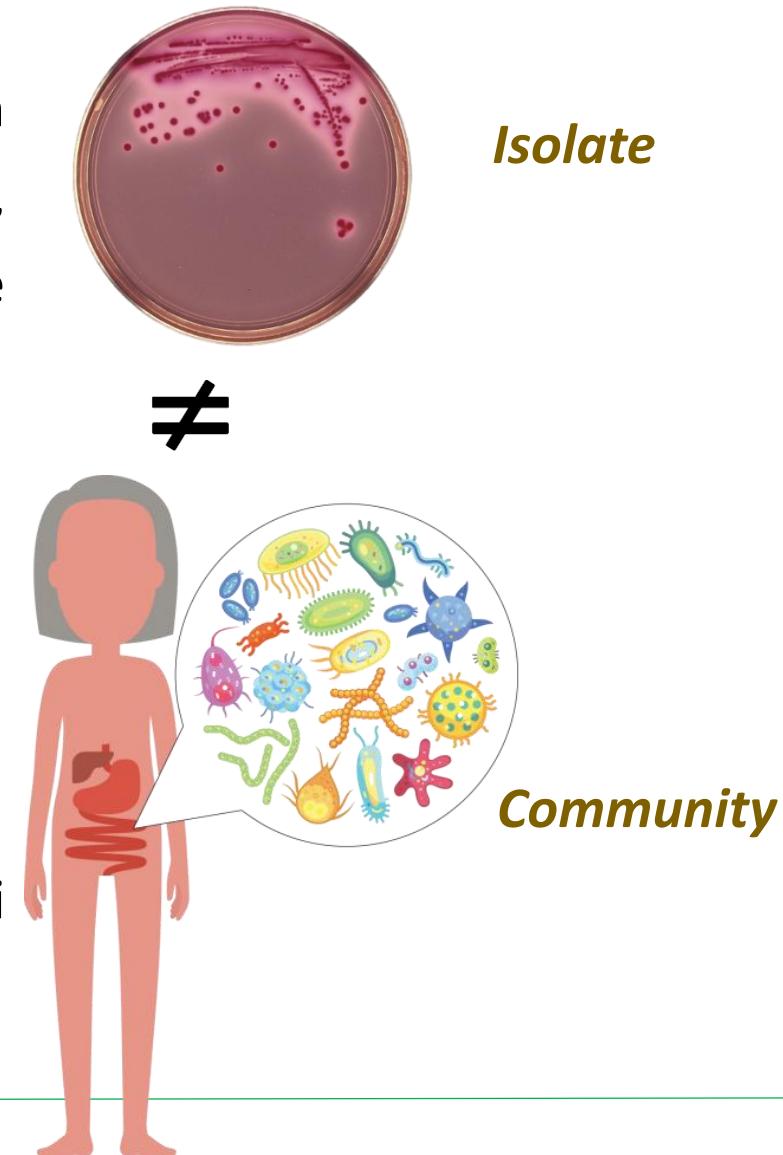
1. Khái niệm và ứng dụng
2. Workflow và nguyên lý của giải trình tự 16s rRNA và Shotgun
3. Quy trình chuẩn bị thư viện và giải trình tự (Wet-lab)
4. Cập nhập các kết quả chuẩn bị thư viện và giải trình tự trên hệ thống GenoLab M (GeneMind)
5. Thảo luận

1. Khái niệm và ứng dụng

a. Khái niệm về “*Metagenomic Sequencing*”

Metagenomics

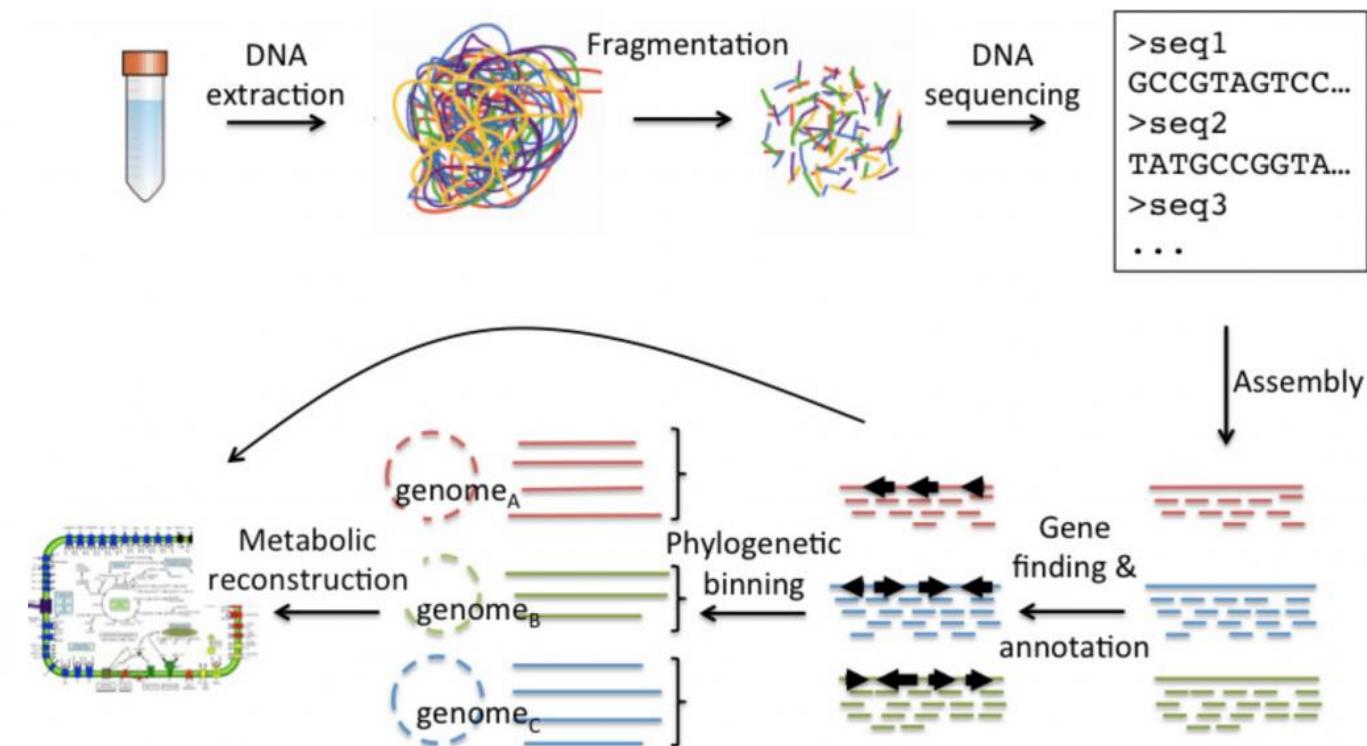
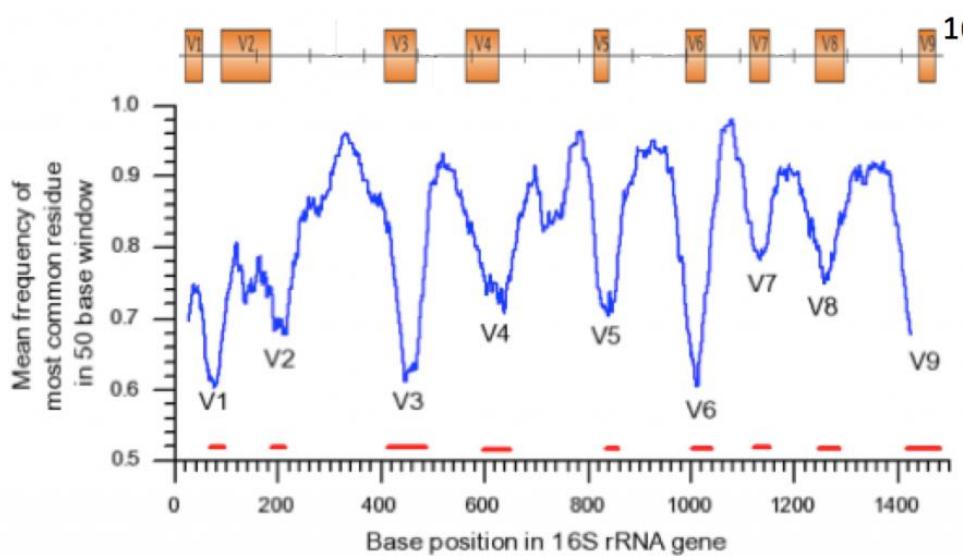
Giải trình tự Metagenomics: là giải trình tự thông lượng cao bộ gen của các hệ vi sinh vật, tập trung vào độ đa dạng của hệ vi sinh vật, hoạt động chức năng của gen, tương tác vi sinh vật và mối quan hệ giữa vi sinh vật và môi trường.



Ưu điểm vượt trội của phương pháp:

- Không cần nuôi cấy và phân lập từng chủng vi sinh vật
- Phương pháp giúp phân tích được các mẫu vi sinh vật phức tạp
- Phân tích các con đường chuyển hóa tế bào và tương tác qua lại trong cộng đồng.

b. Phân loại các phương pháp giải trình tự metagenomic



Targeted sequencing

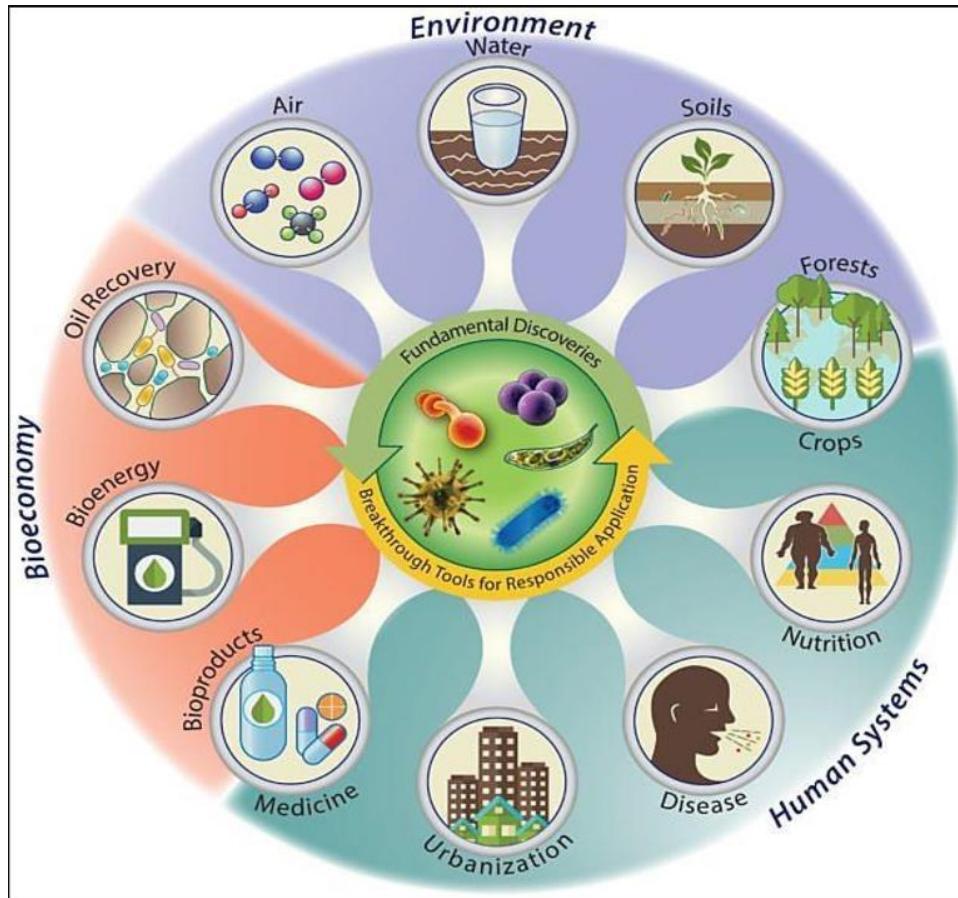
Metagenomic shotgun sequencing

b. Phân loại các phương pháp giải trình tự metagenomic

- Có 2 loại phương pháp tiếp cận metagenomics: Targeted sequencing và Metagenomic shotgun sequencing
- Cả 2 đều có thể trả lời câu hỏi trong mẫu có gì, nhưng để phân tích chức năng thì chỉ có Metagenomic shotgun sequencing

	Targeted sequencing	Metagenomic shotgun sequencing
Ưu điểm	Chỉ giải trình tự cho 1 vùng cụ thể <i>16S cho rRNA vi khuẩn</i> <i>18S cho sinh vật nhân thực</i> <i>ITS cho nấm</i>	Giải trình tự toàn bộ genome của tất cả các loài có trong mẫu
	Có lợi khi phân tích môi trường có sinh khối thấp và nhiễm DNA “host” (da, phổi,...)	Lắp ráp được toàn bộ gene của nhiều thành viên trong quần thể
	Nhận dạng vi sinh vật, phân tích đa dạng, phân loại và phát sinh loài, xác định loài mới, nghiên cứu mối quan hệ giữa vi sinh vật và bệnh tật, siêu gen...	Phát hiện chức năng mới, tạo được bản lắp ráp thô (draft genome) của nhiều loài không nuôi cấy được
	Chi phí thấp, phân tích đơn giản và nhanh, phù hợp với số lượng mẫu lớn	Xác định được đến mức phân loại “loài”, thậm chí “chủng” Dự đoán chức năng và các con đường chuyển hóa phân tử
Nhược điểm	Không “bắt” được virus	Chi phí GTT cao
	Thường chỉ xác định được đến mức “chi (genus)”	Tiêu tốn nhiều tài nguyên
	Kết quả có thể sai lệch do bước nhân bản gen	
	Không phân tích chức năng	

c. Ứng dụng



Sinh học:

Nghiên cứu sự đa dạng và chức năng của vi sinh vật trong môi trường tự nhiên

Y tế:

- Phát triển các phương pháp điều trị mới cho bệnh truyền nhiễm
- Phát triển thuốc mới
- Chẩn đoán bệnh,...

Nông nghiệp:

- Cải thiện sản xuất nông nghiệp

...

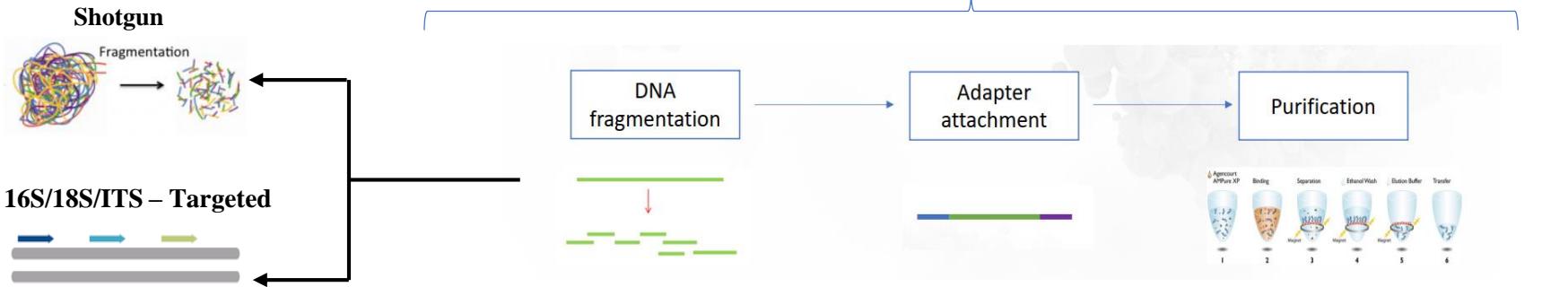
2. Workflow và nguyên lý

Nguyên lý





Workflow cho giải trình tự 16S/Shotgun



Quy trình chuẩn bị thư viện và giải trình tự

- (1) Extract and test quality of genomic DNA
- (2) Genomic DNA fragmentation
- (3) Repair the end of DNA fragments by adding base A at 3' end as viscous terminal
- (4) Add DNA adapter containing indexed sequence on both sides of the viscous terminal via base complementation
- (5) Collect target fragments in a certain range by Magnetic beads screening
- (6) Index the end of the target fragment with PCR amplification, and complete the construction and detection of the sequencing libraries
- (7) Bind the sequencing libraries to sequencing chips with Bridge PCR
- (8) Sequencing

3. Quy trình chuẩn bị thuế việt và giải trình tự 16S/Shotgun (Wet- lab)

Qui trình chuẩn bị thư viện và giải trình tự

(1) Extract and test quality of genomic DNA

(2) Genomic DNA fragmentation

(3) Repair the end of DNA fragments by adding base A at 3' end as viscous terminal

(4) Add DNA adapter containing indexed sequence on both sides of the viscous terminal via base complementation

(5) Collect target fragments in a certain range by Magnetic beads screening

(6) Index the end of the target fragment with PCR amplification, and complete the construction and detection of the sequencing libraries

(7) Bind the sequencing libraries to sequencing chips with Bridge PCR

(8) Sequencing

Nguyên lý tách chiết

Phá vỡ thành và
màng tế bào

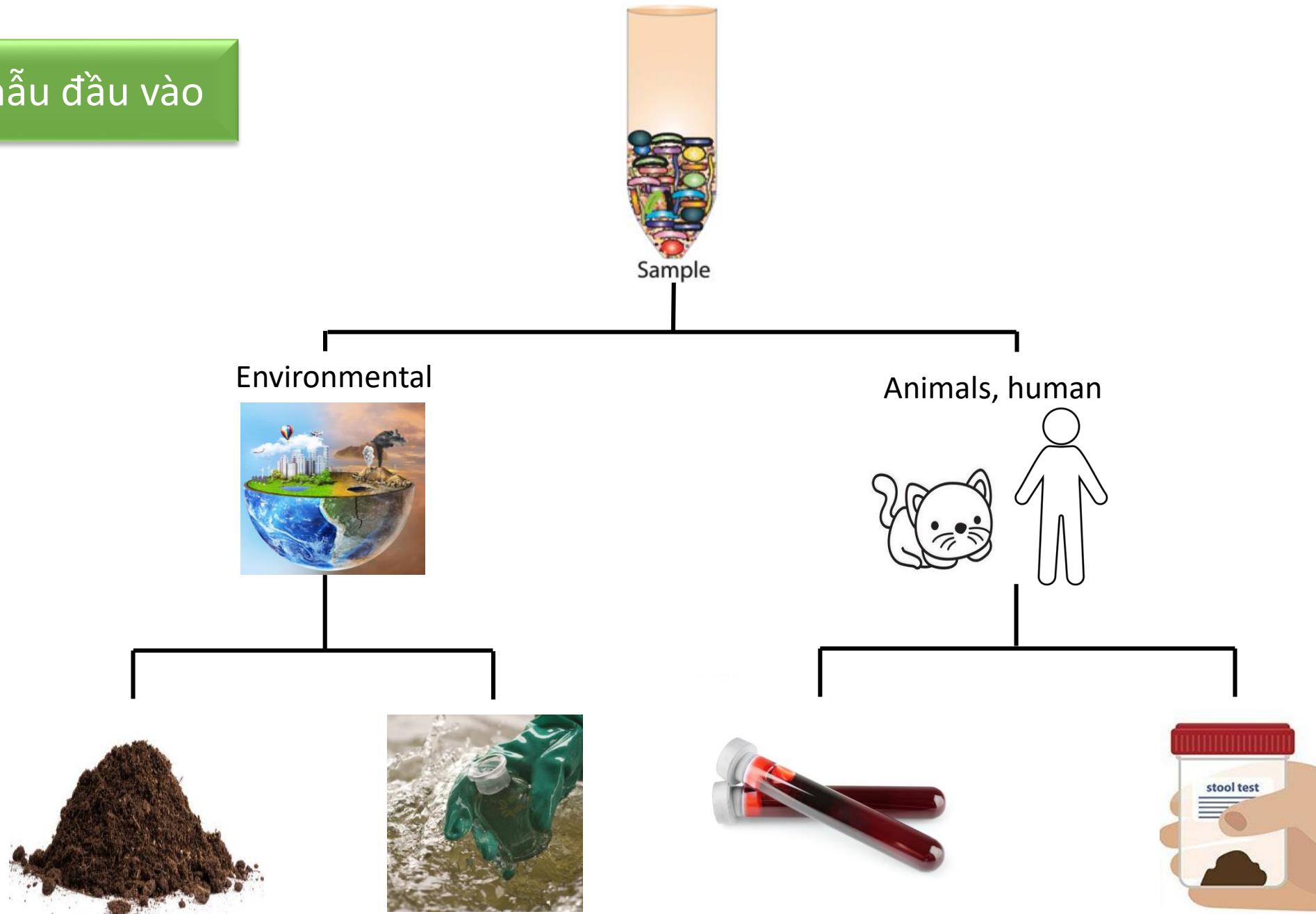


Loại bỏ các thành
phần không mong
muốn



Thu hồi axit nucleic

Các mẫu đầu vào



Một số thách thức khi thu thập, xử lý và tách chiết mẫu

- Khó để thu thập được mẫu đại diện
- Tính đa dạng, phức tạp của mẫu
- Yêu cầu cao về độ tinh sạch của DNA sau tách chiết
- Sự có mặt của DNA vật chủ



(MOLYSIS™ COMPLETE5)



(QIAGEN)



(MACHEREY-NAGEL)



(DEVIN™ MICROBIAL DNAENRICHMENT KIT)

Qui trình chuẩn bị thư viện và giải trình tự

(1) Extract and test quality of genomic DNA

(2) Genomic DNA fragmentation

(3) Repair the end of DNA fragments by adding base A at 3' end as viscous terminal

(4) Add DNA adapter containing indexed sequence on both sides of the viscous terminal via base complementation

(5) Collect target fragments in a certain range by Magnetic beads screening

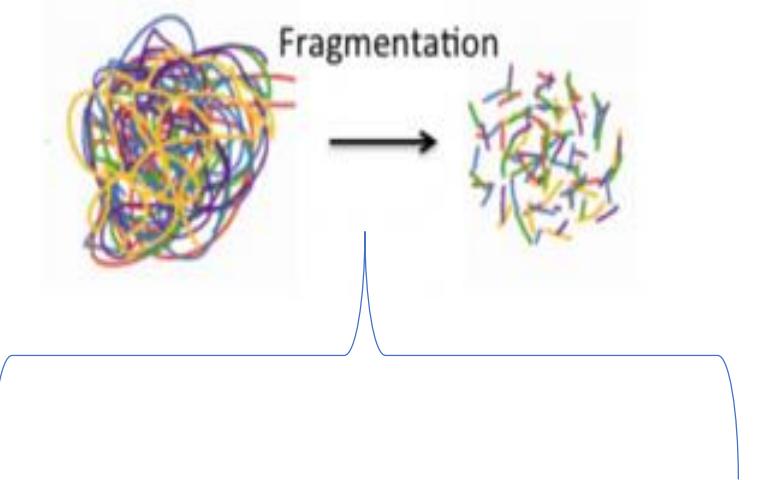
(6) Index the end of the target fragment with PCR amplification, and complete the construction and detection of the sequencing libraries

(7) Bind the sequencing libraries to sequencing chips with Bridge PCR

(8) Sequencing

(2) Genomic DNA fragmentation

Shotgun



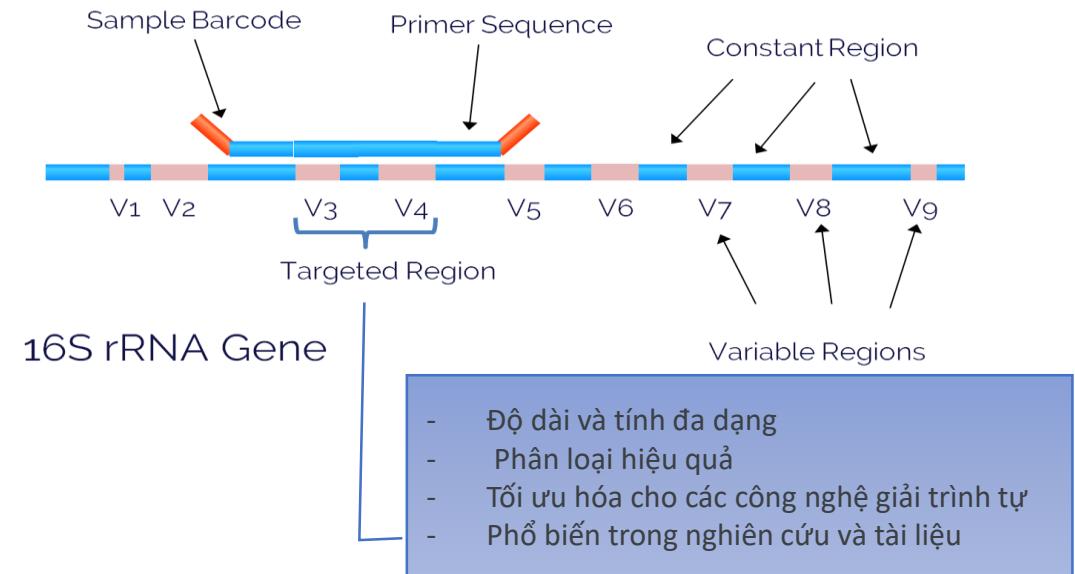
Phương pháp phân
mảnh vật lý



Phương pháp phân
mảnh bằng enzyme

- DNaseI Endonuclease
- Transposon
- Hỗn hợp enzym thương mại: Ion Share (Ion Torrent), Fragmentase (NEB)

16S/18S/ITS – Targeted

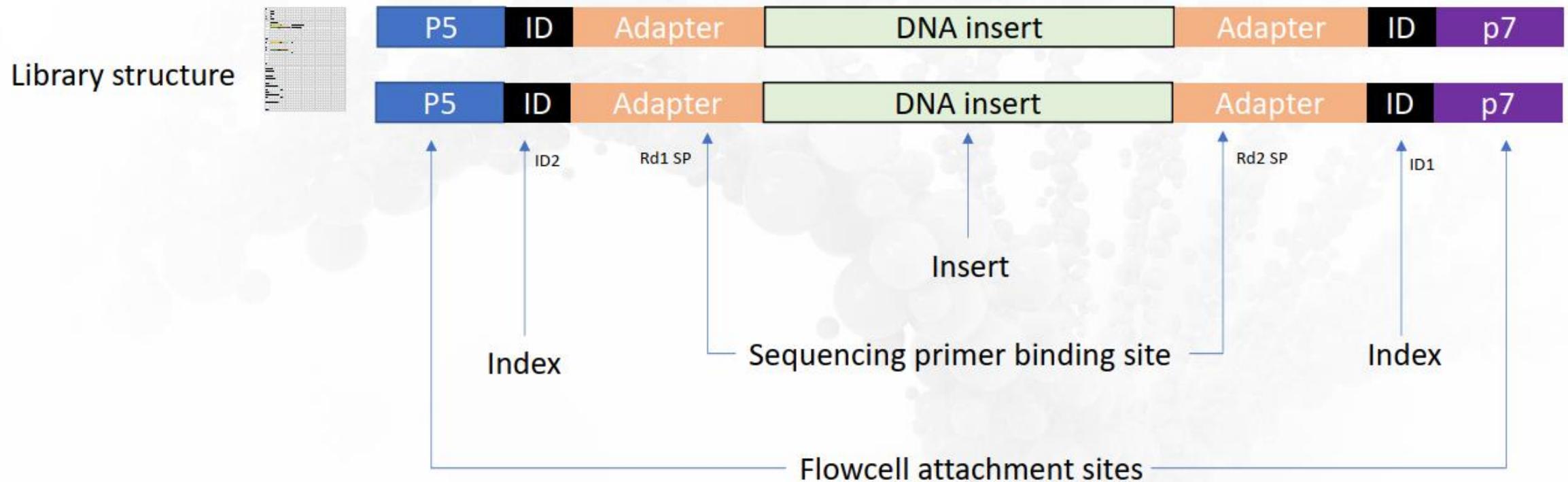


- + Kit khuếch đại toàn bộ vùng 16S: IDT, Qiagen, Thermo
- + Kit In-house: Khuếch đại vùng V3, V4 (GeneMind)

(2) Genomic DNA fragmentation

Tiêu chí	Phương pháp vật lý	Phương pháp enzyme	Phương pháp khuếch đại
Định nghĩa	Là phương pháp phân mảnh DNA dựa trên các tác động vật lý như song siêu âm, áp suất,...	Sử dụng enzyme có hoạt tính bám và phân mảnh DNA tại các vị trí	Sử dụng mồi thiết kế khuếch đại vùng gene mục tiêu cần phân tích (16S/18S/ITS)
Ưu điểm	<ul style="list-style-type: none"> Không bị ảnh hưởng phản ứng bởi hoạt động của enzyme Nhanh Không ảnh hưởng với các chất ức chế Khó điều chỉnh hơn 	<ul style="list-style-type: none"> Không yêu cầu số lượng lớn DNA Không làm hỏng DNA Chi phí đầu tư thấp Dễ dàng kiểm soát phản ứng cắt 	Chọn được vùng mục tiêu phân tích
Nhược điểm	<ul style="list-style-type: none"> Điều chỉnh không phù hợp có thể làm hỏng DNA Yêu cầu số lượng DNA lớn Chi phí đầu tư thiết bị cao 	<ul style="list-style-type: none"> Bị ảnh hưởng bởi hoạt động của enzyme và thành phần DNA cần phân mảnh Bị ảnh hưởng bởi các tạp chất và chất ức chế ví dụ EDTA 	<p>Bị ảnh hưởng bởi độ nhạy và độ đặc hiệu của mồi</p> <p>Phân tích đa dạng có thể bị ảnh hưởng do vsv có biến đổi/ đột biến tại vùng bắt cặp mồi</p>
Kiểu giải trình tự	Shotgun	Shotgun	Targeted

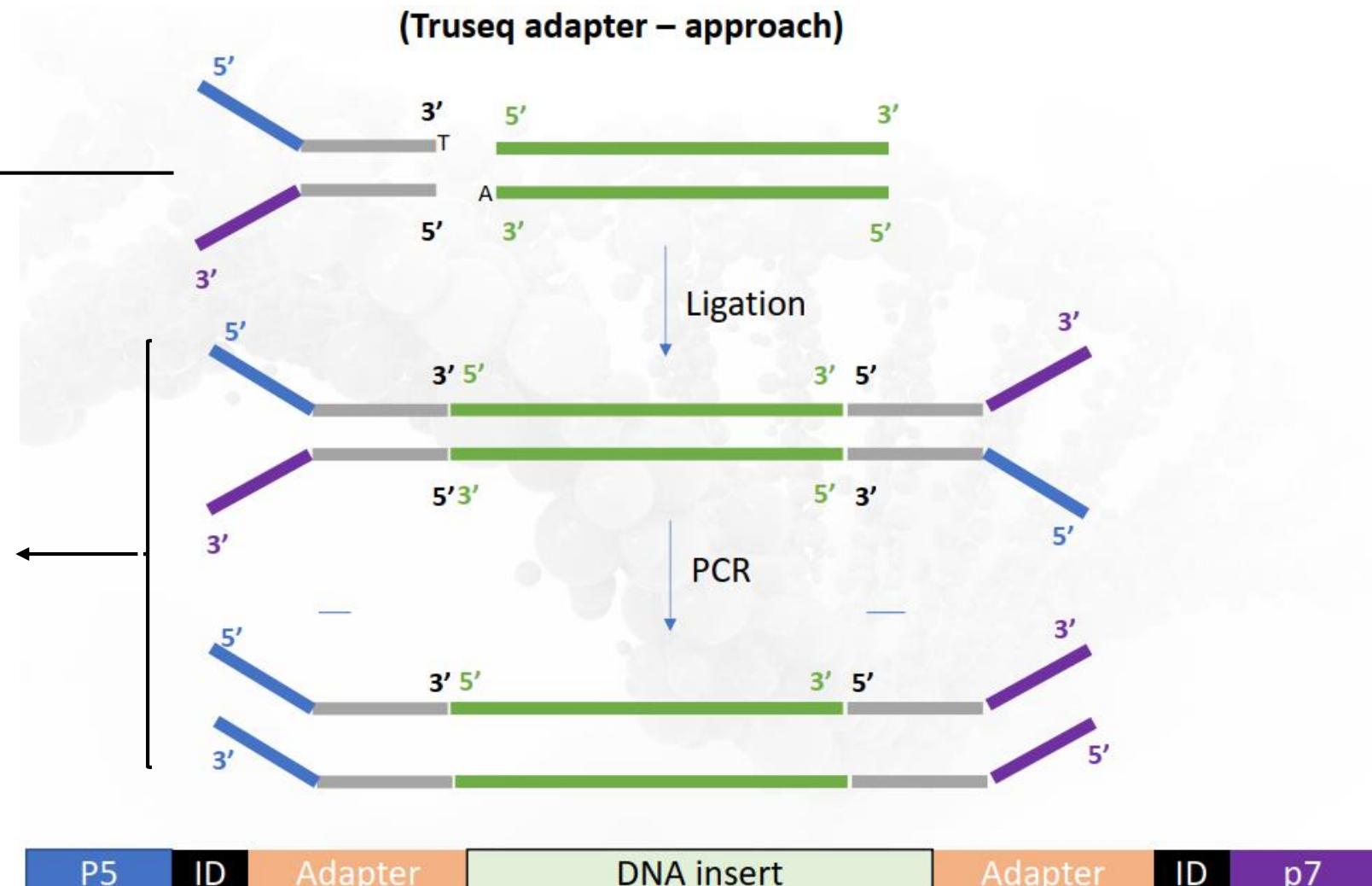
(3) & (4) Adapter attachment



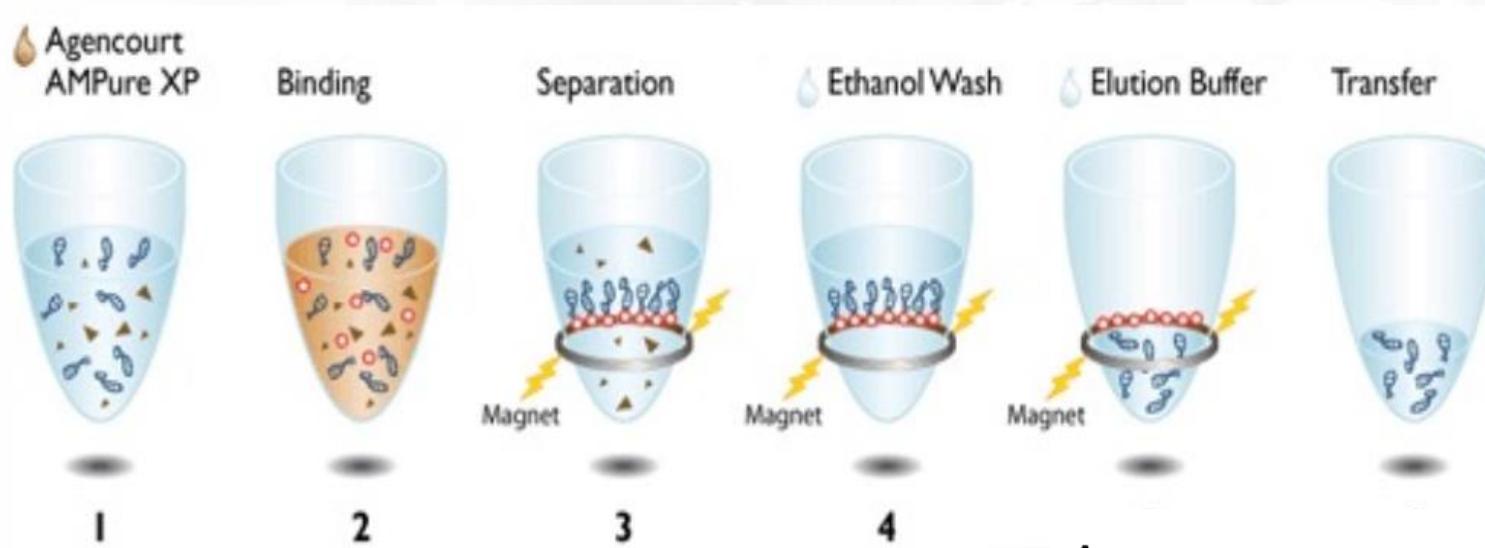
(3) & (4) Adapter attachment

(3) Repair the end of DNA fragments by adding base A at 3' end as viscous terminal

(4) Add DNA adapter containing indexed sequence on both sides of the viscous terminal via base complementation



(5) Collect target fragments in a certain range by Magnetic beads screening



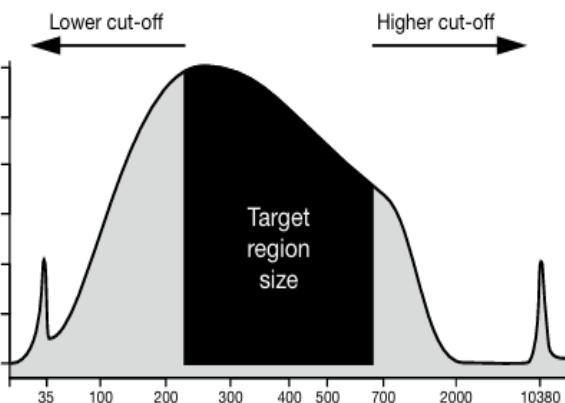
Với sự hiện diện của Polyethylene Glycol (PEG) và Natri Clorua, DNA liên kết với các hạt từ. Khi bổ sung **Elution Buffer** sự liên kết này được loại bỏ và thu nhận được DNA sạch cho các bước chuẩn bị sau.

A

Recovery of DNA fragments [%]

Size (bp)	0.5:1	0.55:1	0.6:1	0.65:1	0.7:1	0.75:1	0.8:1	0.85:1	0.9:1	0.95:1	1:1
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
150	0	0	0	0	0	0	3	5	6	8	13
200	0	0	0	2	3	6	9	20	32	42	59
250	0	1	2	4	8	21	31	54	77	86	91
300	0	0	3	10	21	53	66	82	95	97	95
400	0	5	14	49	75	95	93	94	99	99	95
500	3	20	48	90	109	103	98	99	103	102	98
600	7	45	81	96	96	99	93	96	98	98	94
700	18	70	92	95	95	97	91	93	96	96	92
800	40	81	93	94	94	95	89	91	95	94	91
900	64	84	93	94	95	96	89	91	95	95	90
1000	80	83	91	93	94	95	88	90	94	94	89

B



(6) Index the end of the target fragment with PCR amplification, and complete the construction and detection of the sequencing libraries

Kiểm tra chất lượng thư viện trước khi giải trình tự



(Invitrogen)

Tại sao cần phải kiểm tra chất lượng thư viện DNA?

- Đảm bảo độ chính xác trong phản ứng PCR
- Đảm bảo độ tin cậy của kết quả giải trình tự
- Tiết kiệm hóa chất



Allsheng

Yêu cầu thư viện

- Nồng độ: >1 ng/μl
- Độ tinh sạch cao
- Kích thước thư viện



(Vazyme)

Kiểm tra chất lượng thư viện trước khi giải trình tự



Tiêu chí	Đo OD	Đo huỳnh quang	Điện di	qPCR
Cho biết nồng độ NA	+	+++	++	+++
Cho biết kích thước	-	-	+++	+
Cho biết độ tinh sạch	+++	-	-	+
Thể tích đầu vào nhỏ	+++	+++	+	+
Cho biết trình tự adapter	-	-	-	+++
Giới hạn đo và độ chính xác	Kém	Cao	Trung bình	Cao
Thời gian	Nhanh	Nhanh	Trung bình	Lâu
Chi phí hóa chất	Không đáng kể	Thấp	Cao	Cao

Một số kit chuẩn bị thư viện khác

IDT
INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES

Search

[Order by stock part number »](#)

PRODUCTS & SERVICES ▾ APPLICATIONS & SOLUTIONS ▾ SUPPORT & EDUCATION

Products > Next Generation Sequencing > Amplicon sequencing > Predesigned Amplicon Panels >

xGen™ Metagenomics Amplicon Panels

Research identities in mixed microbial community



QIAseq 16S/ITS Screening Panel (96)
Cat. No. / ID: 333815

Phased primers, enzymes, buffers and beads for library construction for Illumina platforms; sufficient for 96 samples

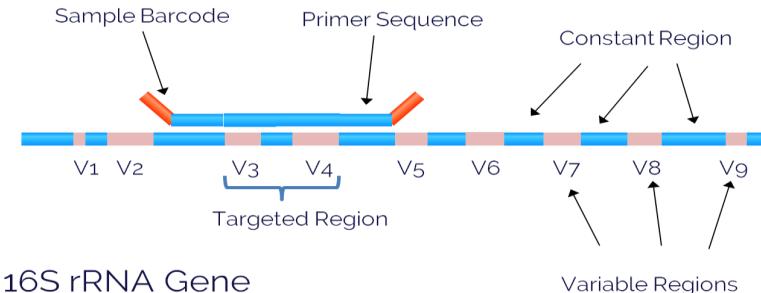
[Copy order details](#)

\$2,500.00 (i) Log in To see your account pricing.

1. Panel / Control / Kit
 [QIAseq 16S/ITS Panel](#) [QIAseq 16S/ITS Smart Control](#)

[QIAseq 16S/ITS Index](#)

✓ 24/7 automatic processing of online orders
✓ Knowledgeable and professional Product & Technical Support
✓ Fast and reliable (re)-ordering

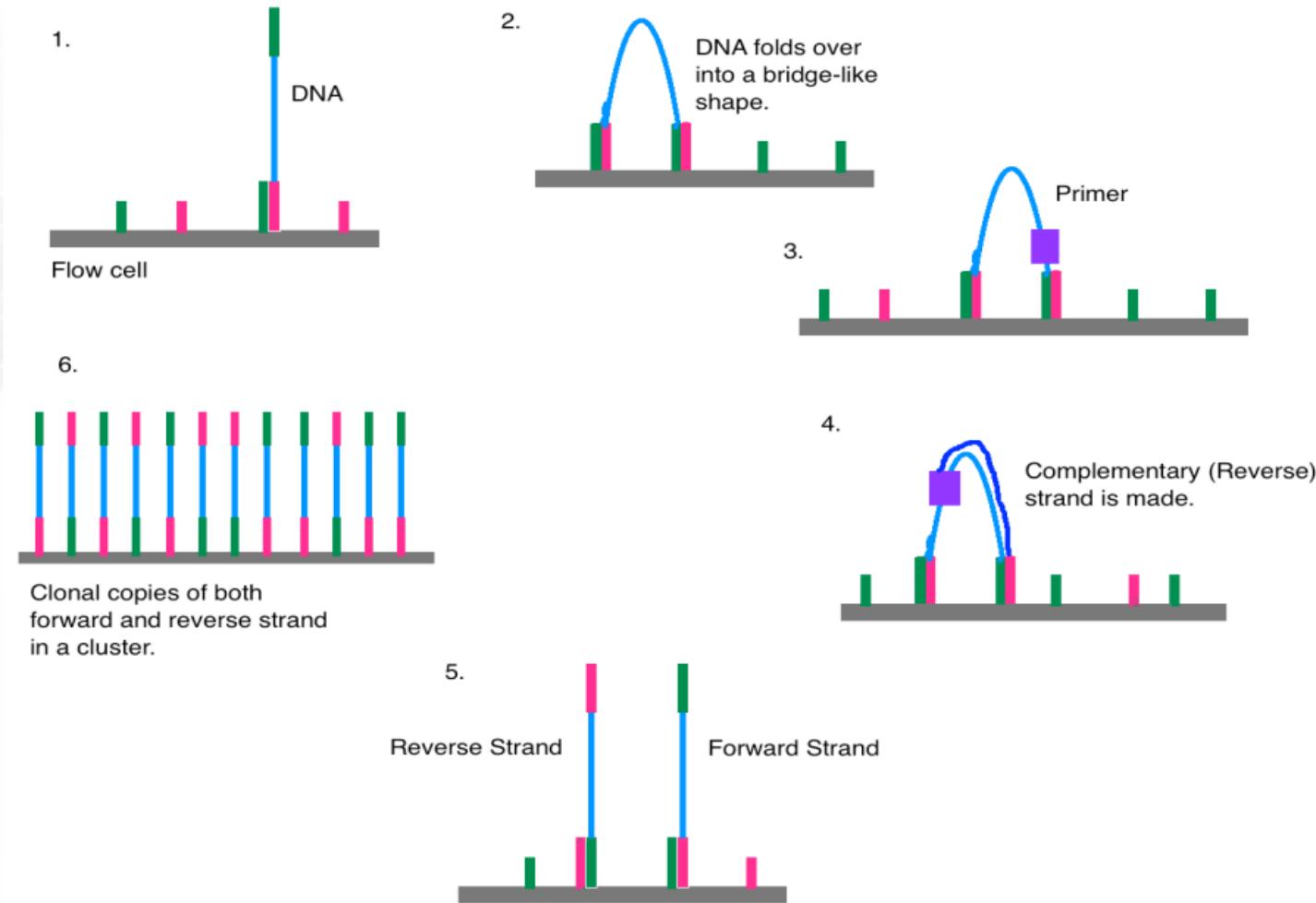
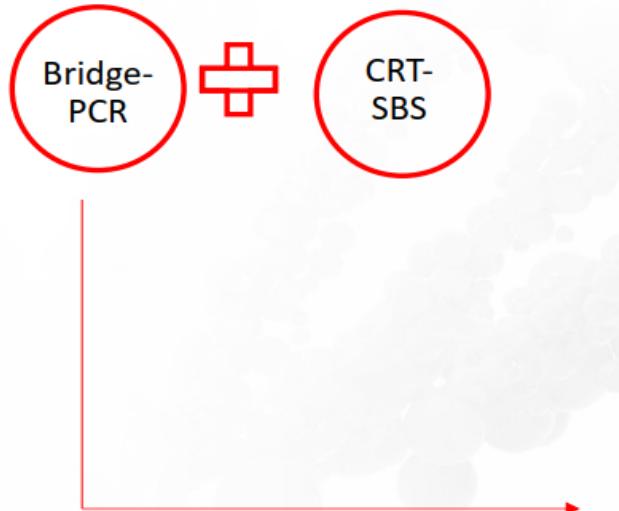


V3-V4 in-house với cặp mồi tự phát triển

Qui trình chuẩn bị thư viện và giải trình tự

- (1) Extract and test quality of genomic DNA
- (2) Genomic DNA fragmentation
- (3) Repair the end of DNA fragments by adding base A at 3' end as viscous terminal
- (4) Add DNA adapter containing indexed sequence on both sides of the viscous terminal via base complementation
- (5) Collect target fragments in a certain range by Magnetic beads screening
- (6) Index the end of the target fragment with PCR amplification, and complete the construction and detection of the sequencing libraries
- (7) Bind the sequencing libraries to sequencing chips with Bridge PCR**
- (8) Sequencing**

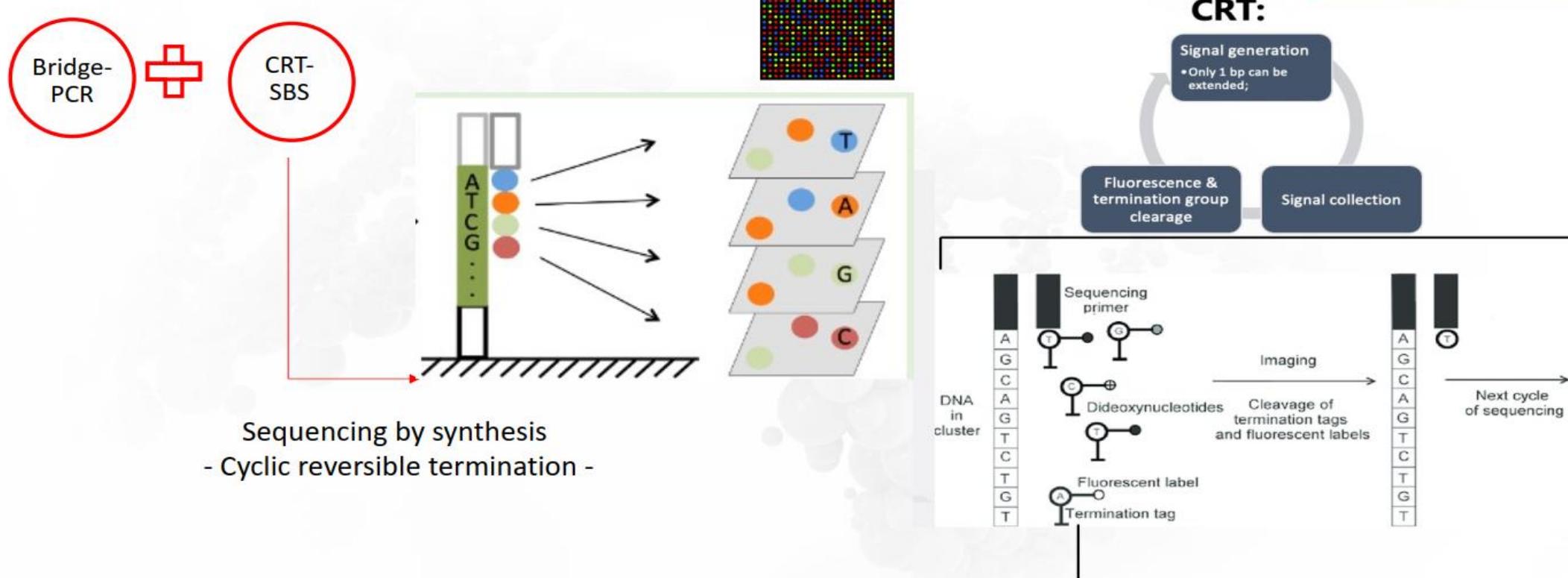
(7) Bind the sequencing libraries to sequencing chips with Bridge PCR



(8) Sequencing



让生命可读 让健康可塑



dNTPs:

- 4-color fluorescence modified;
- Termination group modified;

Hệ thống máy Giải trình tự Genemind



Product Model	FASTASeq 300 Series	GenoLab M Series
Launch	2022	2020
Feature	Flexible Easy-to-use Rapid	Efficient
Qualification	\	CE
Application	mNGS/tNGS/small genome sequencing	WGS/tNGS/mNGS/RNA-seq
Flow cell/run	1 Flow Cell	2 Flow Cell
Max output/run	75 Gb	300 Gb
Max read length	PE150	PE150

Cách thiết kế dung lượng mẫu cho 1 lần chạy 16S/Shotgun trên hệ thống FASTASeq 300 (GeneMind)



Unit	Flowcell Type	Lane	Reads	Read Length	Output (Gb)	Q30	Sequencing Time (h) index (0)	Sequencing Time (h) index (8+8)
Single	FCM	4	100M	SE50	5.0	≥85%	4.5	5.5
				SE75	7.5		6.0	7.0
				PE75	15.0		11.5	13.0
				PE150	30.0	≥80%	19.5	21.0
	FCH	4	250M	SE50	12.5	≥85%	5.0	6.5
				SE75	18.5		6.5	8.0
				PE75	37.5		12.5	14.0
				PE150	75.0	≥80%	22.5	24.0

Cách thiết kế dung lượng mẫu cho 1 lần chạy 16S/ Shotgun trên hệ thống FASTASeq 300 (GeneMind)

	Application	Read length	Data per sample	(100M)	(250M)
Pathogenic microorganism sequencing	Metagenomics for pathogen detection(mNGS)	SE50	25 M reads	4	12
	Microbial whole genome sequencing	PE150	~1Gb	24~32	48~64
	Targeted pathogen next generation sequencing(tpNGS)	PE150	~ 1M reads	>96	>192

Cách thiết kế dung lượng mẫu cho 1 lần chạy 16S/ Shotgun trên hệ thống FASTASeq 300 (GeneMind)

FASTASeq 300 mNGS (SE75-20M reads/Sample, SE50-35~50M reads/Sample)										
100M						250M				
Read Length	Pooling		Single Lane		Read Length	Pooling		Single Lane		
	Run Time	Sample	Run Time	Sample		Run Time	Sample	Run Time	Sample	
SE50-D	N/A	N/A	4.5h	4 35M+/sample	SE50-D	6.5h	6~8 35M+/sample	N/A	N/A	
SE75-D	7.0h	5 20M/sample	6.0h	4 35M+/sample	SE75-D	8.0h	12 20M/sample	N/A	N/A	

Cách thiết kế dung lượng mẫu cho 1 lần chạy 16S/ Shotgun trên hệ thống FASTASeq 300 (GeneMind)

Yêu cầu:

+ 16S:

- 50K Read - PE250
- 100K Read - PE150

+Shotgun (PE150):

- 15M-140M Read ~ (2GB-20GB)

Bài toán cụ thể: Một nhà nghiên cứu có 2 loại mẫu cần **giải trình tự shotgun (PE150)** và **16S (PE150)** với yêu cầu dữ liệu đầu ra để phân tích đa dạng loài là **3GB/mẫu** cho GTT shotgun và **100K read/ mẫu** cho GTT 16s . Thì 1 lần giải trình tự thiết kế được bao nhiêu mẫu?

- a. Với hệ thống FASTASeq 300 - Flowcell FCM (**100M-15GB**)
- b. Với hệ thống GenoLab M – Flowcell FCH (**500M -75GB**)

Cách tính

a. Với hệ thống FASTASeq 300 - Flowcell FCM (**100M-15GB**)

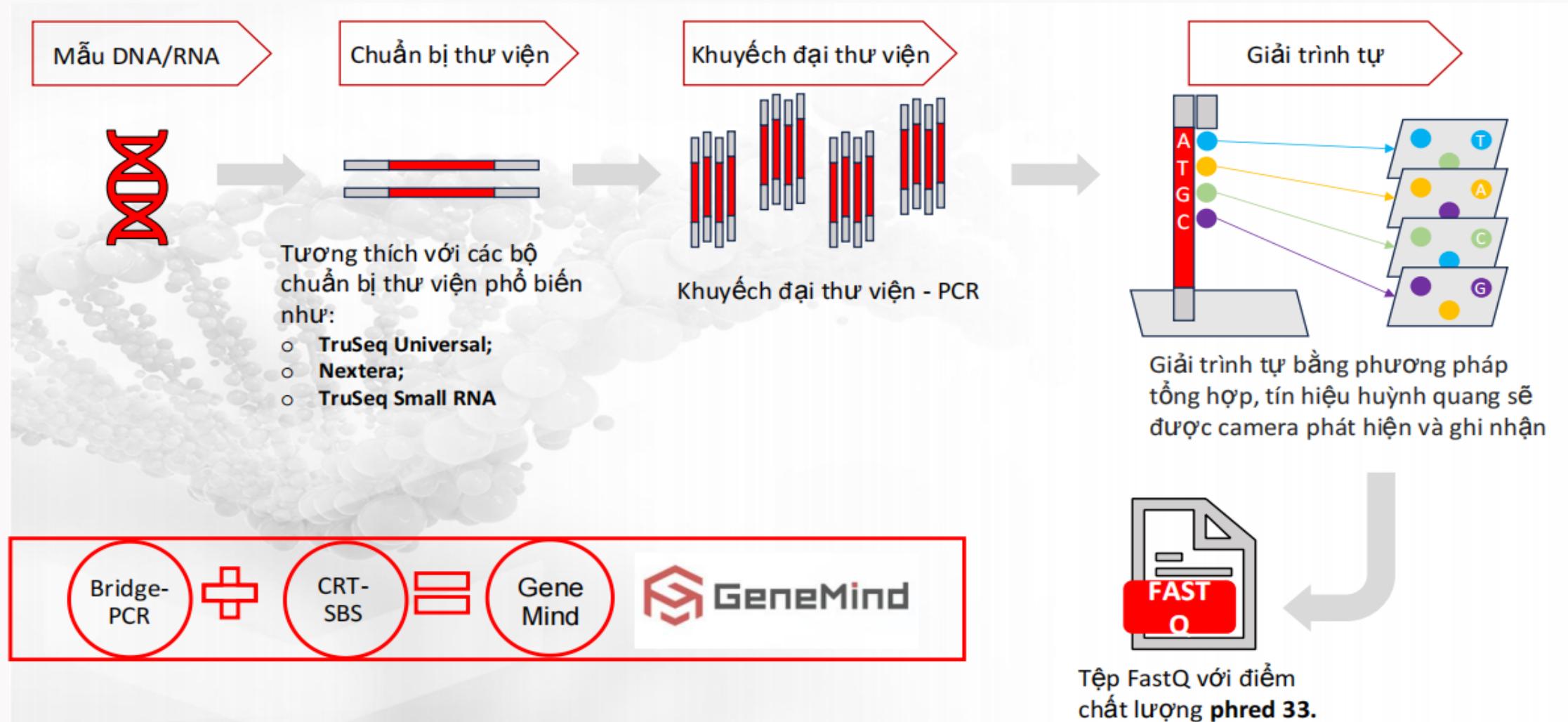
- Mẫu shotgun PE150 (3GB/mẫu)
 $15/3=5$ mẫu → 4 mẫu/ 1 lần chạy
- Mẫu 16S PE150 (100K read/ mẫu)
 $100M/100K=1000$ mẫu → 950 mẫu/ 1 lần chạy

Trường hợp chạy mix 2 loại mẫu:

b. Với hệ thống GenoLab M – Flowcell FCH (**500M -75GB**)

- Mẫu shotgun PE150 (3GB/mẫu)
 $75/3=25$ mẫu → 23 mẫu/ 1 lần chạy
- Mẫu 16S PE150 (100K read/ mẫu)
 $500M/100K=5000$ mẫu → 4500 mẫu/ 1 lần chạy
- Trường hợp chạy mix 2 loại mẫu:

Mức độ tương thích kit chuẩn bị thư viện illumine/ IDT/Qiagen chạy trên máy GeneMind



4. Kết quả CBTV và GTT sử dụng hệ thống GenoLab M (GeneMind)

DỊCH VỤ mNGS SỬ DỤNG HỆ THỐNG GIẢI TRÌNH TỰ GENOLAB M (GENEMIND)

Dịch vụ 20240223

STT	Metric/Sample	Data achieved (445M reads, 133.000MB) (20240223)		Desired MB	QC of (450M reads, 135.000M) (20240223)
		Number of reads ((R1 + R2)/2) (x10^3 reads)	Total based (MB)		
	NA	raw_NA_L00_R1	12,226	3,668	#N/A
1	2301S001	raw_2301S001_L00_R1	32,793	9,838	6,000 Pass
2	RI0002302A03	raw_RI0002302A03	797	239	200 Pass
3	RI0002302A05	raw_RI0002302A05	900	270	150 Pass
4	RI0272310A02	raw_RI0272310A02	548	164	150 Pass
5	RI0272310A04	raw_RI0272310A04	739	222	100 Pass
6	RI0502304A23	raw_RI0502304A23	419	126	100 Pass
7	RI1022312A02	raw_RI1022312A02	414	124	100 Pass
8	RI1022312A03	raw_RI1022312A03	370	111	100 Pass
9	RI1022312A05	raw_RI1022312A05	419	126	100 Pass
10	RM1022307A02	raw_RM1022307A02	561	168	100 Pass
11	SI0002303A02	raw_SI0002303A02	9,968	2,990	2,000 Pass
12	SI0682302A02	raw_SI0682302A02	28,121	8,436	50 Pass
13	SI0742311A01	raw_SI0742311A01	3,897	1,169	500 Pass
14	SM0002311A03	raw_SM0002311A03	12,845	3,853	1,000 Pass
15	SM1172310A21	raw_SM1172310A21	2,628	788	100 Pass
16	TM0572310A02	raw_TM0572310A02	22,144	6,643	2,500 Pass
17	WH0682302A11	raw_WH0682302A11	1,924	577	450 Pass
18	WH1142309A02	raw_WH1142309A02	1,505	452	450 Pass
19	WI0002305A14	raw_WI0002305A14	3,786	1,136	500 Pass
20	WI0002305A17	raw_WI0002305A17	1,906	572	500 Pass
21	WI0322305A01	raw_WI0322305A01	12,435	3,731	3,000 Pass
22	WI0392401A01	raw_WI0392401A01	44,413	13,324	3,000 Pass
23	WI0682312A01	raw_WI0682312A01	21,418	6,426	5,000 Pass
24	WI1242312A01	raw_WI1242312A01	20,951	6,285	5,000 Pass
25	WI1242312A02	raw_WI1242312A02	30,433	9,130	5,000 Pass
26	WI1242312A03	raw_WI1242312A03	28,674	8,602	5,000 Pass
27	WI1242312A04	raw_WI1242312A04	28,981	8,694	5,500 Pass
28	WI1242312A05	raw_WI1242312A05	21,833	6,550	5,000 Pass
29	WI1242312A06	raw_WI1242312A06	21,018	6,305	5,000 Pass
	TOTAL		369,065	110,719	56,650 Pass:29

- Loading concentraion: 2.3 pM
- Achieved data: 133.613 MB, ~ 369M reads. ((Read 1+ Read 2)/2)
- Q30: 93,082%
- Q30R1: 93,799%
- Q30R2: 92,364%
- GC%: 43,865%

→ Dữ liệu trả ra đúng yêu cầu

MỘT SỐ NGHIÊN CỨU mNGS SỬ DỤNG HỆ THỐNG GIẢI TRÌNH TỰ GENOLAB M (GENEMIND)



OPEN ACCESS

EDITED BY
Guan-Zhu Han,
Nanjing Normal University,
ChinaREVIEWED BY
Eric J. Kremer,
Université de Montpellier,
France
Xingui Tian,
First Affiliated Hospital of Guangzhou
Medical University,
China

*CORRESPONDENCE

Genetic characterization of human adenoviruses in patients using metagenomic next-generation sequencing in Hubei, China, from 2018 to 2019

Bin Fang^{1†}, Juan Lai^{2†}, Yongfeng Liu^{2†}, Tian-tian Yu³, Xiao Yu¹, Xiang Li¹, Lijun Dong², Xin Zhang², Wei Yang², Qin Yan², Lei Sun^{2*} and Lin-lin Liu^{1*}

Mục tiêu:

Đánh giá công dụng của mNGS trong mô tả đặc điểm nhiễm HAdV ở Hồ Bắc, Trung Quốc. 25 mẫu HAdV được giải trình tự sử dụng nền tảng NextSeq 550 và GenoLab M. Từ đó xác định mối quan hệ tiến hóa của các chủng và các sự kiện tái tổ hợp tiềm năng thông qua việc xác định đặc điểm bộ gen và kiểu phân tử.

Nguyên liệu và phương pháp:

1. Lấy 400 mẫu tách chiết tự động bằng The KingFisher Flex platform (Prefill Viral Total NA Kit 2×96 preps, KFRPF-805296) → phát hiện 21 mẫu dương tính với HadV sử dụng kit AgPath-ID™ One-Step RT-PCR Reagent (Thermo Fisher Scientific, United States).
2. 4 mẫu được nuôi cấy trong tế bào HEp-2, dòng tế bào ung thư biểu mô thanh quản ở người → phân lập và nuôi cấy virus.
3. Tách chiết DNA từ mẫu dịch phết mũi họng (EZ1 Virus Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany)) và xác định nồng độ Qubit dsDNA HS Assay Kit and Qubit 4.0 fluorometers (Thermo Fisher Scientific, United States) → bảo quản -80°C.
4. Nuôi cấy virus và tách chiết (mẫu chuẩn).
5. Chuẩn bị thư viện: VAHTSTM Universal DNA Library Prep Kit for Illumina® V3 (Vazyme, China) với 100 pg - 4 µg DNA đầu vào.
6. Thư viện được chia thành 2 GTT bằng Illumina NextSeq 550 or GeneMind GenoLab M platform.

TABLE 1 Assembly statistics of 25 samples sequenced via two platforms.

	Reference	Reference length (bp)	Aligned base/ reference (%)		Contig number		Largest contig length (bp)		Total length (bp)		N50 (bp)		N90 (bp)	
Sample			GL	NS	GL	NS	GL	NS	GL	NS	GL	NS	GL	NS
S11	MW816005.1	35,226	99.53	99.59	1	1	35,215	35,209	35,215	35,209	35,215	35,209	35,215	35,209
S15	MT424875.1	35,994	88.75	88.64	1	1	36,070	36,044	36,070	36,044	36,070	36,044	36,070	36,044
S16-C1	MW748645.1	35,255	99.62	99.56	1	2	35,423	19,799	35,423	35,262	35,423	19,799	35,423	15,463
S16	MW748645.1	35,255	99.66	99.66	1	1	35,277	35,277	35,277	35,277	35,277	35,277	35,277	35,277
S21	MW748657.1	35,255	99.49	99.60	1	1	35,292	35,397	35,292	35,397	35,292	35,397	35,292	35,397
S28-C1	MF315029.1	35,958	98.65	98.60	1	1	35,952	36,019	35,952	36,019	35,952	36,019	35,952	36,019
S28	MF315029.1	35,958	98.51	98.54	4	1	11,907	35,985	36,158	35,985	11,581	35,985	9,394	35,985
S3	KF006344.1	35,960	97.04	98.63	5	2	14,957	25,385	35,357	35,871	9,912	25,385	4,246	10,486
S33	MW748657.1	35,255	99.50	99.60	1	1	35,284	35,292	35,284	35,292	35,284	35,292	35,284	35,292
S4	KF006344.1	35,960	98.79	98.79	1	1	35,780	35,780	35,780	35,780	35,780	35,780	35,780	35,780
S41	MW748657.1	35,255	99.53	99.77	1	1	35,260	35,363	35,260	35,363	35,260	35,363	35,260	35,363
S43-C1	KF006344.1	35,960	79.12	98.49	11	3	9,835	12,959	29,236	35,983	2,936	12,407	1,455	10,617
S43	KF006344.1	35,960	98.67	98.68	1	1	35,796	35,796	35,796	35,796	35,796	35,796	35,796	35,796
S48	MK041241.1	35,951	94.51	94.64	2	1	29,692	35,907	35,929	35,907	29,692	35,907	6,237	35,907
S5	MW748654.1	35,264	99.38	99.44	3	2	15,069	24,507	35,319	35,318	10,860	24,507	9,390	10,811
S50-C1	MW748657.1	35,255	99.44	99.33	2	3	24,287	19,818	35,264	35,335	24,287	19,818	10,977	3,605
S50	MW748657.1	35,255	99.51	99.60	2	1	19,728	35,291	35,246	35,291	19,728	35,291	15,518	35,291
S55	MT263140.1	35,935	97.01	97.09	7	6	10,569	11,276	36,660	36,672	8,296	10,953	4,321	2,890
S58	MF315029.1	35,958	92.12	81.51	10	10	6,037	8,141	35,177	36,316	4,468	4,756	1,881	2,294
S59	MW748672.1	35,256	99.52	58.88	1	1	35,371	35,368	35,371	35,368	35,371	35,368	35,371	35,368
S60	MN513344.1	35,986	78.70	81.78	13	10	4,155	7,430	31,084	31,526	2,852	4,620	1,247	1,727
S63	MF681662.1	35,805	92.37	92.54	3	3	18,579	32,250	36,227	35,874	18,579	32,250	15,191	2,073
S64	KX289874.1	34,755	99.45	99.26	1	2	34,724	33,712	34,724	34,737	34,724	33,712	34,724	33,712
S71	KX289874.1	34,755	99.43	99.32	1	1	34,716	34,821	34,716	34,821	34,716	34,821	34,716	34,821
S9	MZ151863.1	35,936	98.04	97.93	1	1	36,035	35,990	36,035	35,990	36,035	35,990	36,035	35,990

GL, GenoLab M. NS, NextSeq 550.

N50 size was calculated by arranging all sequences and then adding the lengths of sequences from the longest to the shortest until the summed length exceeded 50% of the total length of all sequences. N90 is similarly defined as N50.

→ Các chỉ số phân tích về aligned, Contid, bp,.. tương đối tương đồng giữa hệ thống (Nextseq) Illumina và (GenoLab M) Genemind

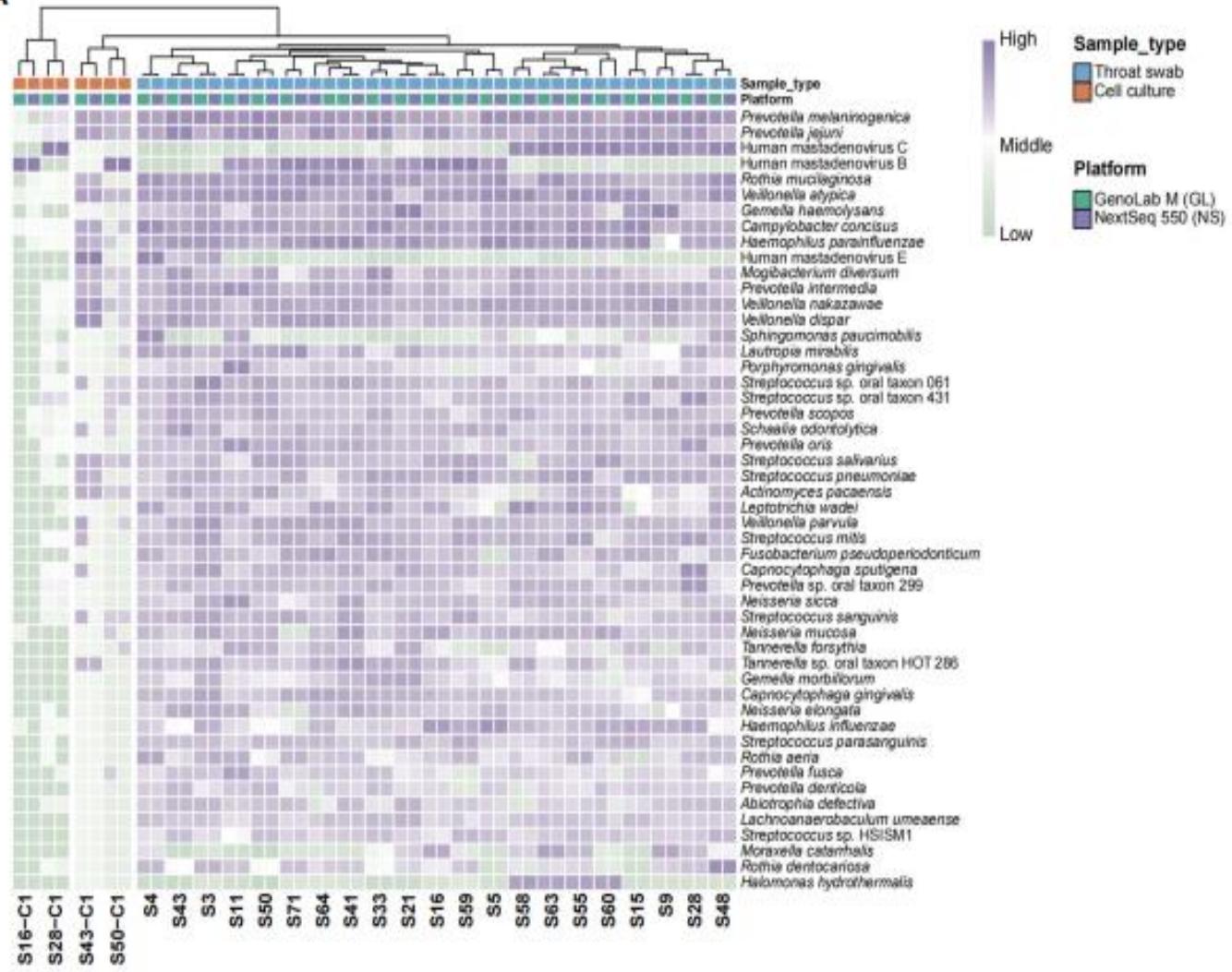
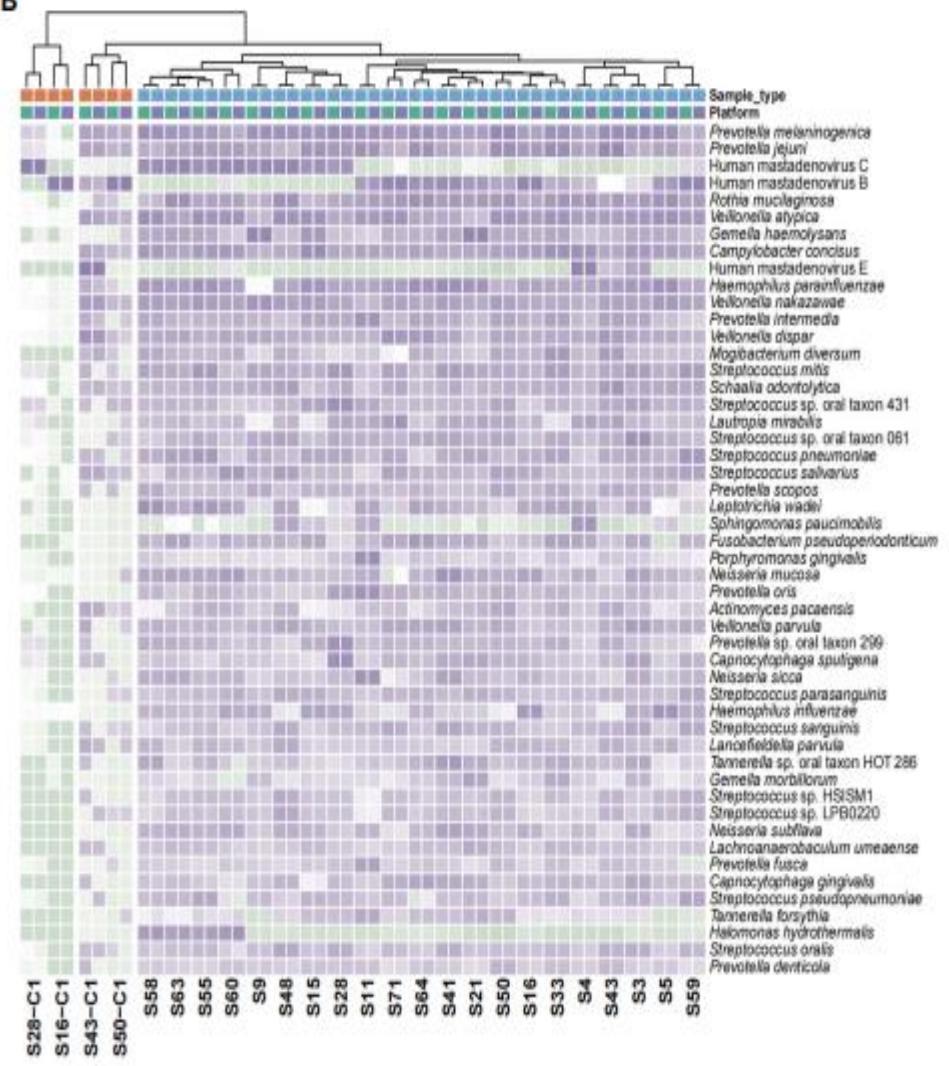
A**B**

FIGURE 1

Heat map showing abundance clustering of the top 50 species. (A) SE150 and (B) SE75 sequencing mode. Z values represent the corresponding value of the heat map, which were obtained after normalization to the relative abundance of the species in each row. The color gradient from green to purple indicates low to high relative abundance. The x-axis displays the samples and groups and the y-axis represents the species annotation information. Horizontal clustering indicates the similarity of species richness in different samples.

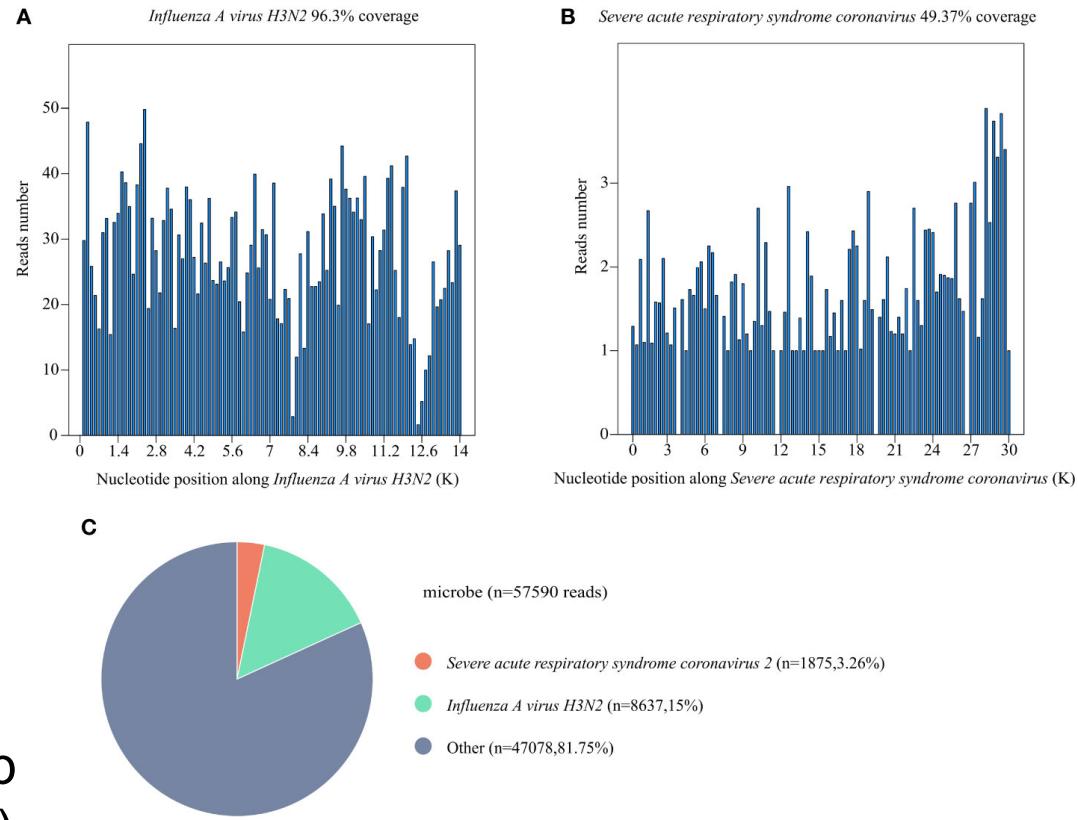
→ Phân tích đa dạng loài tương đương giữa 2 hệ thống

Kết luận: Công bố chứng minh tính đồng nhất về dữ liệu, kết quả lắp ráp và phân loại vi sinh vật cho thấy Hệ thống giải trình tự GenoLab M với hệ thống Illumina NextSeq 550. Cho thấy hệ thống Genolab M phù hợp sử dụng cho mNGS

Phát hiện đồng nhiễm SARS-CoV-2 và cúm A (H3N2) trong dịch rửa phế nang phế quản của bệnh nhân mắc hội chứng COVID kéo dài

- **Nguyên liệu:** Dịch rửa phế nang, phế quản (BALF)
- **Phương pháp:** Giải trình tự thế hệ mới metagenomic (mNGS) trên Genolab M

Kết luận: mNGS trên Genolab M chẩn đoán kịp thời đồng nhiễm SARS-CoV-2 và cúm A (H3N2)



Kết quả giải trình tự mNGS của dịch rửa phế quản phế nang (BALF)

5. Thảo luận

Thanks for listening!