

# 全ゲノムシーケンスによる de novo アセンブリのベストプラクティス

PacBio® HiFi リードは長いリード長（最大 25 kb）と高い精度 (>99.9%) を両立し、最も複雑なゲノムの場合でも、連続的で完全かつ正確な de novo ゲノムアセンブリを迅速かつ低コストで行うことを可能にします。



## 連続性

N50 値の向上



## 完全性

欠落した塩基・  
断片化した遺伝子なし



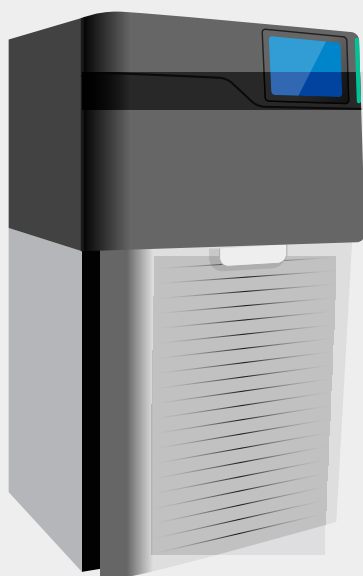
## 正確性

高精度の塩基配列と  
フェーズ済みアレル



## コンピュータ処理

小さなファイルサイズと  
高速解析



Sequel® IIe システムは、あらゆるゲノムを対象に、コスト効率の良い、スケーラブルな HiFi シーケンシングを実現します

### 大きな、または複雑なゲノム

最大規模のゲノムでも高速かつ効率的なアセンブリで、複雑な倍数体のハプロタイプ解析が可能

### 大規模なヒトゲノム解析

さまざまな試料から得られたヒトゲノムを年間で数百～数千個シーケンシングするための柔軟でスケーラブルなワークフロー



セコイアの六倍体ゲノム (27 Gb) を  
約二週間でシーケンシングとアセンブリ



1日でヒトゲノムをアセンブリ

「HiFi を使用していないゲノムは、もはやリファレンスグレードとは言えません。」

ケビン・マッカーナン (Medicinal Genomics)

# HiFi シークエンシング・ワークフローにおける推奨 DNA からリファレンス品質のゲノムアセンブリまで



## ライブラリー調製

- SMRTbell® エクスプレス・テンプレート調製キット 2.0<sup>1,2</sup> を用いて、非増幅ゲノム DNA (≥ 5 µg) から約 5 時間でライブラリーを調製<sup>3</sup>
- サイズセレクションで、より長いインサートを濃縮



## SMRT シークエンシング

- Sequel II または IIe システムおよび SMRT® Cell 8M を用いて、ゲノムの複雑さに応じて必要なカバレッジ深度でシークエンシング
- ハプロタイプあたり 10 ~ 15 倍のカバレッジを推奨



## データ解析

- SMRT® Link ゲノムアセンブリ<sup>4</sup>、または IPA、HiCanu、hifiasm などオープンソースのツール<sup>5</sup>を用いたゲノムアセンブリおよびフェージング
- データセット例：  
**pacb.com/dataset**

※リード長、SMRT Cell 8M あたりのリードおよびデータ、その他のシークエンシング性能は、サンプルの品質や種類、インサートサイズによって異なります。

一つの SMRT Cell 8M で 2 Gb までのゲノム\*をアセンブリ、またはより大きなゲノム用にスケールアップ。Sequel II または IIe システムで年間最大 200 サンプル (2 Gb) をシークエンシング。

## DNA インプット量に応じた柔軟なオプション

	DNA インプット量	ゲノムサイズ限度
標準 HiFi シークエンシング <sup>1</sup>	≥ 5 µg	なし
Low DNA input シークエンシング <sup>6</sup>	300 ng	1 Gb*
Ultra-low DNA input シークエンシング <sup>6</sup> (アンプリコンベース)	5 ng	500 Mb

\* DNA インプット量に対応したサイズ

### 主な参考文献

1. **Procedure + checklist – Preparing HiFi SMRTbell libraries using SMRTbell express template prep kit 2.0.** PacBio documentation.
2. **Overview – Sequel systems application options and sequencing recommendations.** PacBio documentation.
3. **Technical note: Preparing DNA for PacBio HiFi sequencing – Extraction and quality control.** PacBio literature.
4. **Product brochure: SMRT Link – Explore and analyze your data with confidence.** PacBio literature.
5. **Recommended Open-source Genome Assembly Tools: IPA, HiCanu, hifiasm.**
6. **Application note: Considerations for using the low and ultra-low DNA input workflows for whole genome sequencing.** PacBio literature.



de novo アセンブリのための  
全ゲノムシークエンズ解析についての  
詳細はこちら：[pacb.com/wgs](https://pacb.com/wgs)



詳細はトミーデジタル株式会社まで  
お問い合わせください。

Phone : **03-5240-0843**

Email : [info\\_pac@digital-biology.co.jp](mailto:info_pac@digital-biology.co.jp)

研究用のみに使用できます。診断目的およびその手続き上の使用はできません。  
Information in this document is subject to change without notice. PacBio assumes no responsibility for any errors or omissions in this document. Certain notices, terms, conditions, and/or use restrictions may pertain to your use of PacBio products and/or third party products. Refer to the applicable PacBio terms and conditions of sale and to the applicable license terms at <http://www.pacb.com/legal-and-trademarks/terms-and-conditions-of-sale/>. PacBio, the PacBio logo, SMRT, SMRTbell, Iso-Seq, and Sequel are trademarks of PacBio. All other trademarks are the sole property of their respective owners.