

PacBio



一つ上のレベルの 驚異的解析力

Onso™ システムでショートリードに
新たなスタンダードを確立



他の
卓上型シーケンサーよりも
15 倍高い精度



かつてない高感度



サンプルあたりの
コスト低減



ワークフローを
シームレスに統合

Q40+ が持つ意味

SBB™ (Sequencing by binding) ケミストリーを採用した Onso システムは、90% 以上のリードが Q40 以上 (Q40+) という高精度で、画期的なショートリードシーケンシング性能を備えています。従来の 15 倍の高精度によって、レアバリエントの検出が可能な高感度、シーケンシング要件の大幅な低減、より低いサンプルあたりコストで全体的により高いスループットを実現しています。

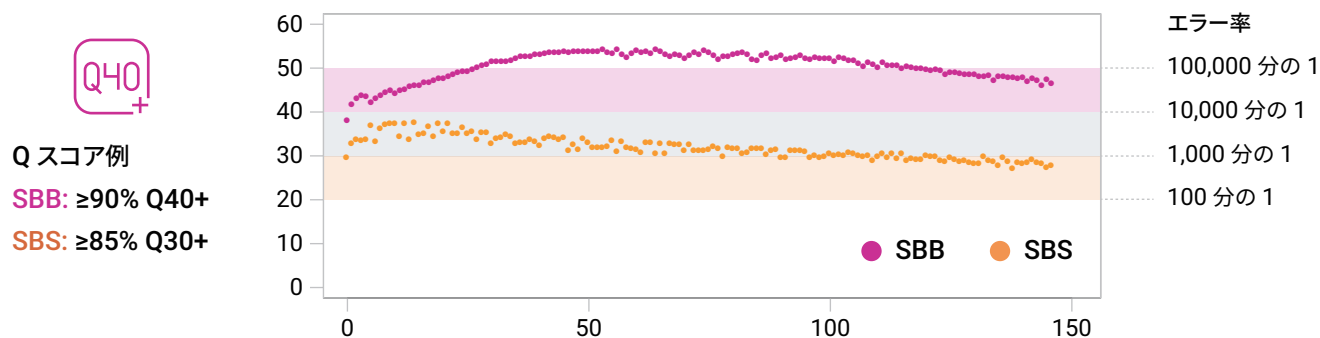


図 1. SBS のスコアが 100 サイクル後に Q30 を下回るのとは対照的に、SBB では一貫して Q40 以上のクオリティスコアが得られる

SBB テクノロジーの Q40+ の精度が可能にする感度の向上により、SBS と同等のシーケンシングデプスにおけるレアバリエントの検出感度は約 2 倍になり (図 2A)、または 4 分の 1 のシーケンシングでも SBS よりも高い感度が得られました (図 2B)。

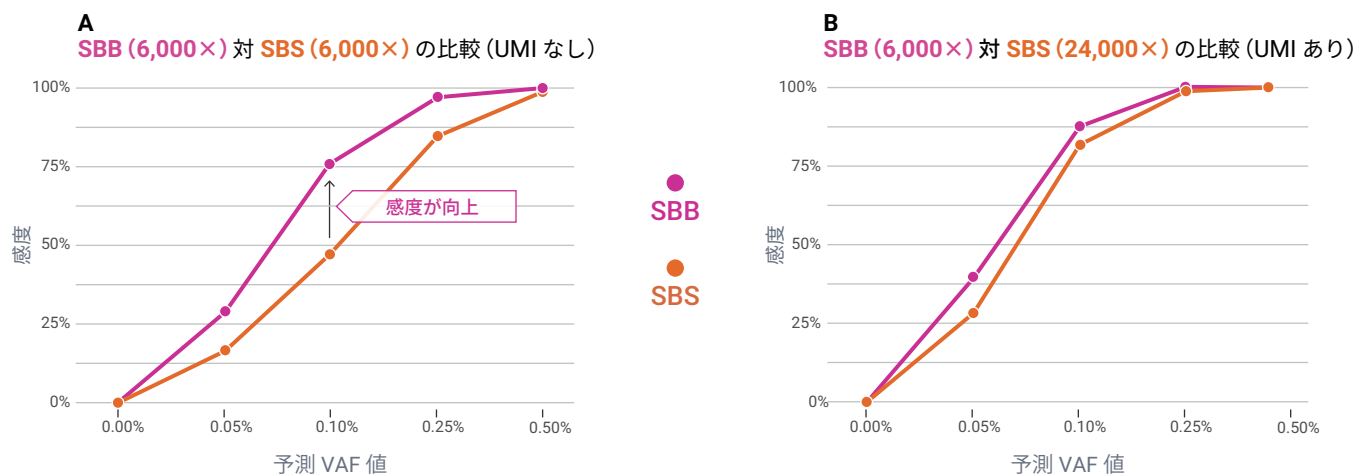


図 2. 5 種類の異なるバリエントアレル頻度を示す 10 遺伝子中の既知のバリエントを用いて SBB と SBS のバリエント検出性能を試験した。(A) 6,000× SBB (分子バーコード (UMI) なし) 対 6,000× SBS (UMI なし)、(B) 6,000× SBB (UMI あり) 対 24,000× SBS (UMI あり)。UMI を用いた重複除去ステップを追加することで、Onso のパフォーマンスはさらに向上する (両図の SBB の比較)

Onso システムでできること

リキッドバイオブシー研究で ctDNA を検出

リキッドバイオブシーは、血液やその他の体液に含まれる循環腫瘍 DNA (ctDNA) を用いた非侵襲的アッセイで、がんの検出とモニタリングの研究に革命をもたらすことが期待されています。ctDNA のバリエーションは非常に低い頻度で起きることがあるため、その検出には SBB ケミストリーによってもたらされる超高感度技術が最適です。

ノイズからバリエントを区別

Q スコアが高いほど S/N 比が高いため、Onso システムの Q40+ の精度により、交絡エラーが少なく、確実なバリエント検出が可能になります。SBS ではシーケンシングエラーにより、バリエントをノイズから区別することがほぼ不可能 (図 3A) であるのに対し、Onso システムを用いたシーケンシングでは真のバリエントをはっきりと区別できます (図 3B)。

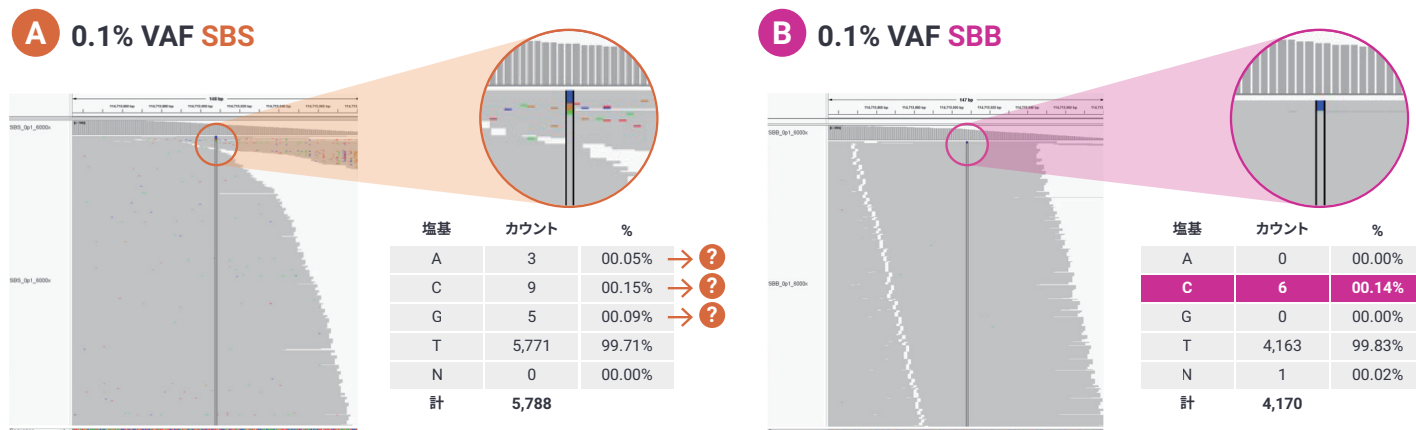
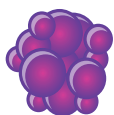


図 3. 一例として、SeraCare ctDNA Complete Mutation Mix の NRAS Q61R バリエーションの SBS (A) と SBB (B) の IGV 出力 (カバレッジ 6,000x)

Onso システムが力を発揮する研究分野



がん研究

シーケンシングの難易度が高い領域を含めて、がんの原因となる低頻度の遺伝子変異を検出



感染症

低レベルの薬剤耐性変異の検出



遺伝子編集研究

新規バイオマーカーの同定と編集結果の確認



シングルセル

細胞の不均一性の理解につながる
10x Genomics 社
シングルセル
RNA ライブラリーに対応

ケミストリーの違い

従来のSBSテクノロジーとは異なり、SBBはシーケンシングサイクルの各段階で最適条件を適用するため、生リードのエラーをほぼ排除することができます。このケミストリーの違いこそが、シーケンシング精度に画期的な進歩をもたらしています。

SBBテクノロジーの仕組み

SBBは、**Initiate**、**Interrogate**、**Activate**、**Incorporate**という4つの主要なステップで構成されています。SBBと決定的に異なる点として、SBBケミストリーでは、シーケンシングプロセスにおける結合ステップとそれに続く伸長ステップを分離することで、分子的アーティファクトによってもたらされるエラーを排除しています。



シーケンシングは、3'末端で余計な塩基の取り込みを防ぐブロッカーが可逆的に結合した状態で開始されます。



蛍光標識を付けられた塩基がフローセルに流れ込みます。適切な塩基が結合するとシグナルが発せられ、Onsoシステムの高性能な光学系で測定されます。

SBSとの決定的な違いとして、蛍光標識を付けられた塩基はDNA鎖には取り込まれず、シグナル検出後に洗い流されます



次に、可逆的に結合していたブロッカーが除去されて、ヌクレオチドの3'末端が活性化されます。



最後に、フローセルに流れ込んだ非標識かつブロッカー付きのヌクレオチドのうちから、相補的な塩基が取り込まれます。これにより、さらなる取り込みはブロックされます。

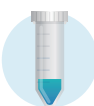
SBBの特徴



分子のダメージなし
取り込む際に
リンカーアームの残存なし



重複の最小化
重複配列が少なく、
そのため有用なリードが多い



7分の1の
サンプルインプット量
貴重なサンプルの
使用量を低減



インデックスホッピングはほぼなし
ライブラリーで誤った
インデックスの割り当てが回避され、
有用なリードが増加

SBBケミストリーに
おける
これらの点が
Q40+の精度を
可能にする



Q40+の精度
10,000塩基中
1塩基以下という
驚異的な
低エラー率

ライブラリー調製

Onso ライブラリー調製キットは、Onso システムの Q40+ のシーケンシング精度に対応するよう最適化されたライブラリーを作製するために使用されます。本キットを用いることで、既存の P5/P7 ライブラリーの変換など合理化されたワークフローにより、わずか3時間でライブラリーが作製されます。

ワークフロー

ワークフローは、高分子量 (HMW) DNA (図 4A) およびあらかじめ断片化または分解された DNA (図 4B) に対応しています。

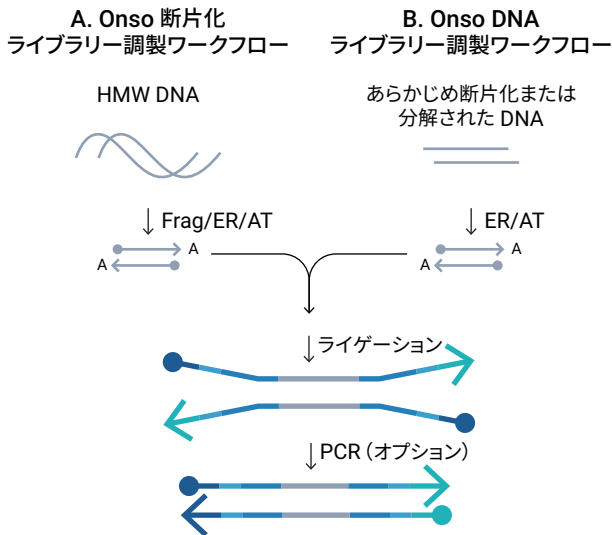


図 4. Onso 断片化ライブラリー調製キットおよび DNA ライブラリー調製キットのワークフロー。

主な利点



パフォーマンス

- Q40+ のシーケンシング精度に最適化されたライブラリー
- ライゲーションを用いた手法よりも高い変換効率



使いやすさ

- 一つのキットで、わずか3時間でライブラリー調製が完了するよう最適化されたワークフロー



柔軟性

- 幅広いサンプルタイプ (断片化 DNA や高分子量 DNA など) やインプット量 (10 ~ 1,000 ng) に対応



適合性

- 主要なショートリードのアプリケーションに対応
- ライブラリー変換キットにより、既存の P5/P7 ライブラリーを Onso システムでシーケンシング可能
- シーケンシングワークフロー全体にわたる、Onso ライブラリーと PacBio compatible パートナーのシームレスな統合

Q40+ の精度に最適化されたライブラリー

Onso ライブラリー調製キットから生成したシーケンシングリードは、標準的なショートリードライブラリー調製法で生成したものよりも精度が高いという利点があります (図 5)。

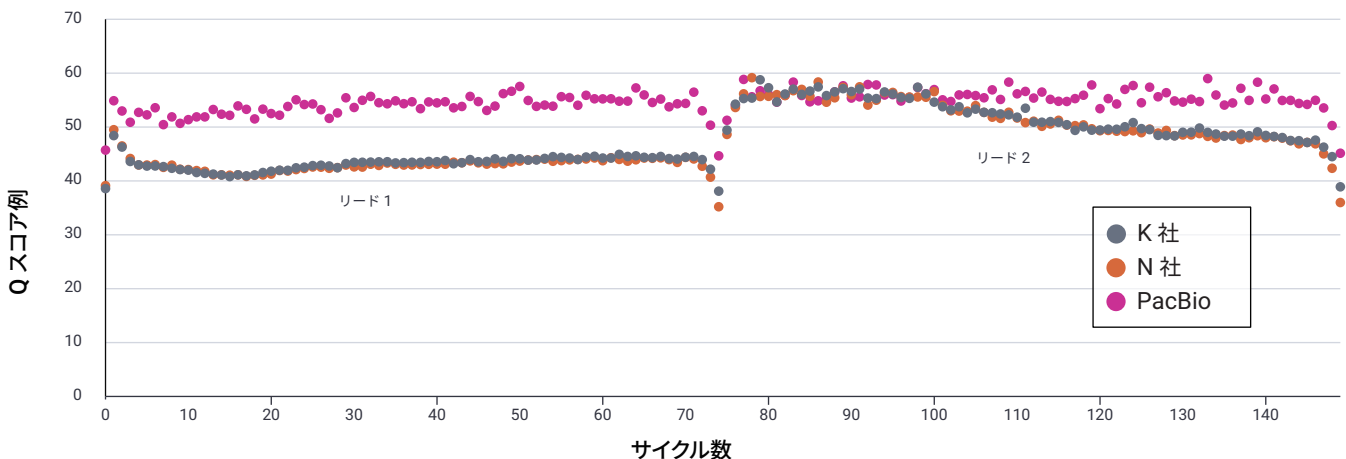
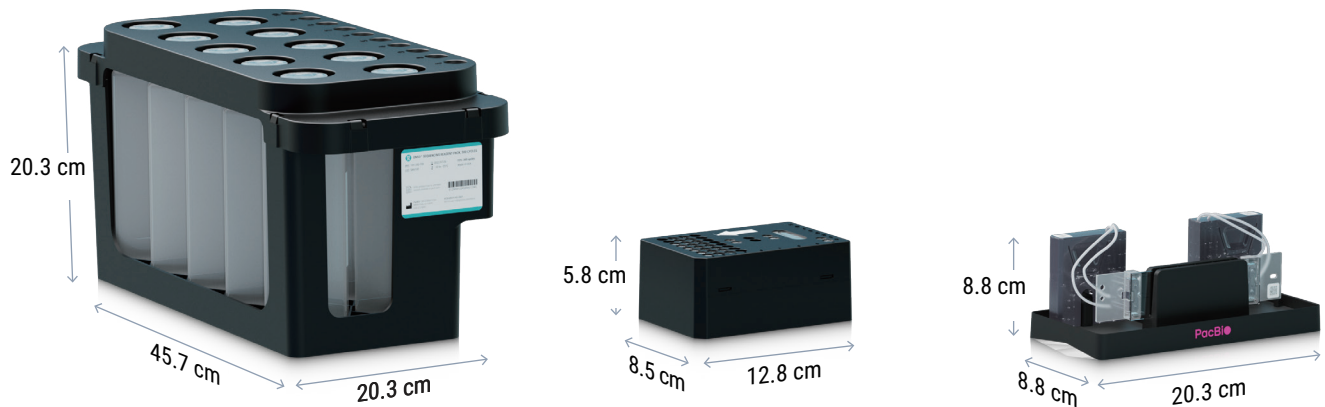


図 5. 他社製キット (K 社、N 社) と比較した、Onso ライブラリー調製のリード精度

ラボの既存ワークフローにフィット

Onso のシーケンシング用消耗品と付属キットは、NGS ラボで採用されているワークフローとのシームレスな統合を可能にします。



Onso 試薬パック、クラスタリングプレート、フローセル。

3 ステップの装填プロセス



セットアップに必要な時間は最小限



直感的なユーザーインターフェースがワークフローを手順ごとに案内



フローセル用レーンはそれぞれ個別にアクセスでき、より柔軟なセットアップが可能

アプリケーションに対する仕様

Onso システムは、ほとんどのラボで必要とされる、さまざまなアプリケーションに対応できる中規模のショートリードシーケンサーです。

サンプル	リード形式	サンプル数/ラン [†]
ターゲットエンリッチメントパネル (1 Mb、平均デプス 6,000×)	2 × 150	20 ~ 25
シングルセル RNA-Seq (10,000 細胞、20,000 リード/細胞)	2 × 100*	2 ~ 3
ターゲットアンプリコンパネル (160 遺伝子/平均デプス 500×)	2 × 150	48 ~ 60

* アプリケーションによってリード形式は異なります。Onso シーケンシングキット (200 サイクル用) が対応しています。

† 表に記載のサンプル数は、1 キットあたりの出力の期待値に基づく推定数です。実際のサンプル数は、サンプルの種類、品質、実験目的により異なります。

Onso システム

Onso システムとクラスタージェネレーターは、驚異的な精度と既存のショートリード用ツールに統合できる、スケーラブルかつ柔軟性の高い卓上型プラットフォームです。



シーケンシングに対する仕様

Onso 試薬	リード長	リード数	出力 (Gb)	ランタイム	クオリティスコア
シーケンシングキット (200 サイクル用)	2 × 100 bp 1 × 200 bp	4 ~ 5 億	100	32 時間	≥ 90% Q40
シーケンシングキット (300 サイクル用)	2 × 150 bp	4 ~ 5 億	150	48 時間	≥ 90% Q40

注文情報

製品	品番
Onso fragmentation DNA library prep kit	102-499-100
Onso DNA library prep kit	102-431-400
Onso indexed adapter kit	102-431-700
Onso library amp kit	102-410-800
Onso library quant kit	102-431-800
Onso blocking oligo kit	102-431-600
Onso library conversion kit	102-529-500
Onso indexed library control kit	102-529-900
Onso system	102-837-000
Onso 200 cycle sequencing kit	102-860-100
Onso 300 cycle sequencing kit	102-860-300



Headquarters

1305 O' Brien Drive Menlo Park, CA
94025 United States

日本支社

〒 220-0012
神奈川県横浜市西区みなとみらい 3-7-1
オーシャンゲートみなとみらい 8F
パックバイオジャパン合同会社
Info-JP@pacb.com

輸入販売元

トミーデジタルバイオロジー株式会社
〒 112-0002
東京都文京区小石川 1-1-17
日本生命春日駅前ビル 3 階
phone: 03-6240-0843 fax: 03-6240-0461
info_pac@digital-biology.co.jp

READY TO GET STARTED WITH THE ONSO SYSTEM?



製品・サービス

pacb.com/products

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。
Research use only. Not for use in diagnostic procedures. © 2023 Pacific Biosciences of California, Inc. ("PacBio"). All rights reserved. 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 pacb.com/license. Pacific Biosciences, the PacBio logo, PacBio, Circulomics, Omniome, SMRT, SMRTbell, Iso-Seq, Sequel, Nanobind, SBB, Revio, and Onso are trademarks of PacBio.