

HiFiリードを用いた全ゲノムシーケンシングによるバリエント検出ーベストプラクティス

Sequel® II/III システムの高精度ロングリード (HiFi リード) を使用すると、1年間に数百から数千のゲノムから包括的にバリエントを検出することができます。HiFiリードは、マッピングが困難な反復領域を含む、1塩基バリエント (SNV)、インデル、構造多型(SV)、コピー数バリエント(CNV)に対して高い精度と再現性を提供します。

なぜHiFiリードが必要か？

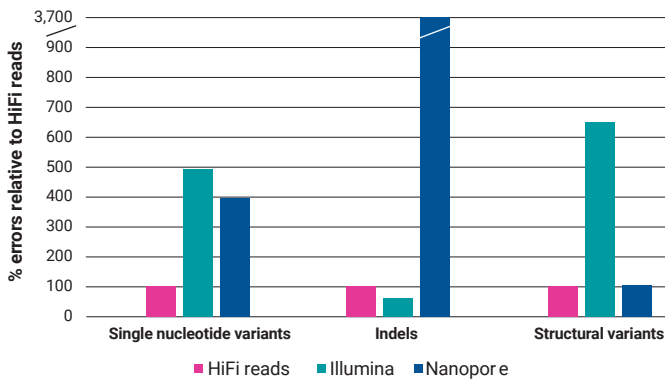
- 高い精度
- 均一なカバレッジ
- ゲノムの完全性
- アリル解像度、長距離フェージング
- すべてのバリエント型で最高のパフォーマンス

ご存じですか？



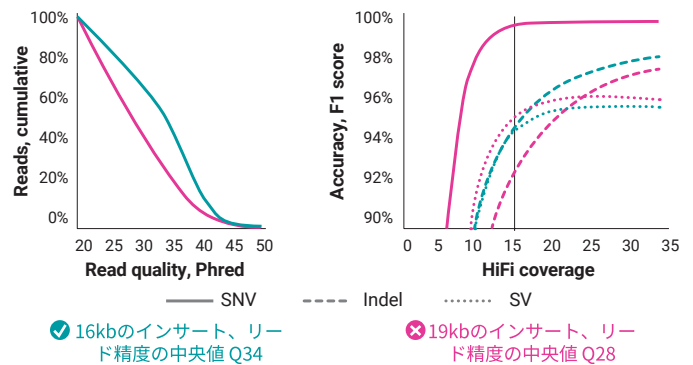
PrecisionFDA Truth Challenge V2において、PacBio® HiFi readは、すべてのカテゴリーで最高の精度と再現性を達成しました。¹

すべてのバリエント型で低いエラー率



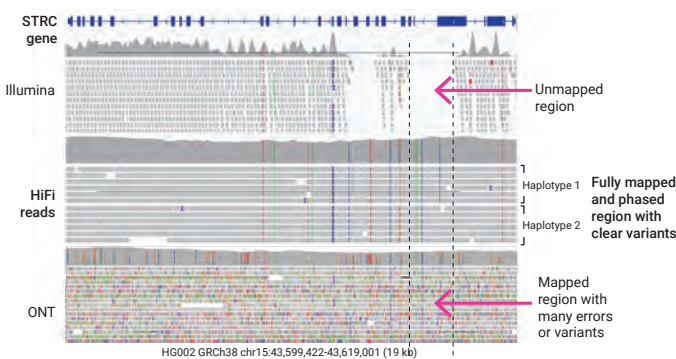
Genome in a Bottleベンチマークに対するバリエントコールのパフォーマンス: PacBio HiFi リード (35カバレッジ、Sequel II システム、2.0ケミストリー)、Illumina (35カバレッジ、NovaSeq)、Oxford Nanopore (60カバレッジ、PromethION R9.4.1)

15カバレッジで高い精度と再現性



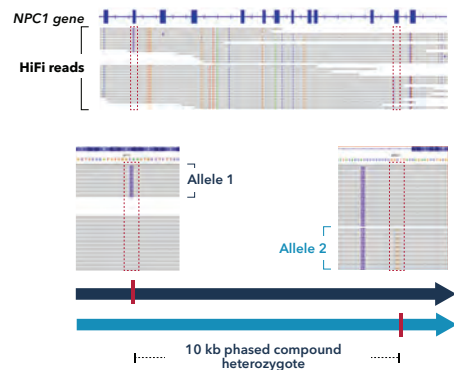
Genome in a Bottle benchmark v4.2に対するバリエントコールの性能(Sequel II システム、2.2 ケミストリー; DeepVariant v1.1)

医療関連の遺伝子のバリエントをより多く検出²



Genome in a Bottle (GIAB), HG002_NA24385_sonのSTRC遺伝子のアライメント

すべてのバリエントをハプロタイプにフェージング³



NPC1遺伝子がフェージングされ、コンパウンドヘテロ接合性であることを示します

HiFi シークエンシングワークフローの推奨事項

DNAから包括的バリエーション検出まで



ライブラリ調製

- HiFi シークエンシング用 SMRTbell® ライブラリを、一人で最大16サンプル、オートメーションフレンドリーなワークフローでは最大96サンプルを調製^{4,5}
- あらゆる種類のサンプル (血液、組織、細胞株) 由来の増幅していないゲノムDNA (>5 µgインプット) から開始⁶
- サイズセレクションにより、15-18kbのインサートをエンリッチします。この範囲より大きなインサートは、リード精度とバリエーションコール精度を低下させる可能性があります



SMRTシークエンシング

- Sequel II/IIe システムと SMRT® Cell 8M を使用して、希望するカバレッジまでシークエンス
- ヒトゲノムで15カバレッジ以上を達成し、バリエーションを包括的に検出するには、SMRT Cell 8M を2個使用することを推奨。

**リードの長さ、SMRT Cell 8Mあたりのリード数/データ、その他のシークエンシングの性能は、サンプルの品質/種類とインサートサイズによって異なります。



データ解析

- SMRT® Linkの構造多型コールの解析で利用可能⁸な、pbsv⁷による構造多型のコール
- PacBioモデルを使用した DeepVariant⁹による小さいバリエーションのコール
- 複数サンプルについてpbsvと DeepVariantでジョイントコールを使用
- WhatsHap¹⁰によるフェージング



HiFiリードを用いた全ゲノムシークエンシングによるバリエーション検出の詳細は、こちらをご確認ください

い: pacb.com/variant



お問い合わせ先
トミーデジタルバイオロジー株式会社
Phone: 03-5240-0843
Email: info_pac@digital-biology.co.jp

このスケーラブルなワークフローにより、年間数百から数千のゲノムのシークエンシングが可能になります

KEY REFERENCES

1. Olson, N.D. et al. (2021) **precisionFDA Truth Challenge V2: Calling variants from short- and long-reads in difficult-to-map regions.** *bioRxiv preprint*.
2. Wenger, A. M. et al. (2019) **Accurate circular consensus long-read sequencing improves variant detection and assembly of a human genome.** *Nature Biotechnology*. 37, 1155–1162.
3. Farrow, E. et al. (2021) **Applications of Third Generation Sequencing in Unsolved Disease.** ACMG conference presentation.
4. **Procedure + checklist – Preparing HiFi SMRTbell libraries using SMRTbell express template prep kit 2.0.** PacBio documentation.
5. **Overview – Sequel systems application options and sequencing recommendations.** PacBio documentation.
6. **Technical note: Preparing DNA for PacBio HiFi sequencing – Extraction and quality control.** PacBio literature.
7. **pbsv – PacBio structural variant (SV) calling and analysis tools.** PacBio GitHub.
8. **Product brochure: SMRT Link – Explore and analyze your data with confidence.** PacBio literature.
9. Poplin, R. et al. (2018) **A universal SNP and small-indel variant caller using deep neural networks.** *Nature Biotechnology*. 36, 983–987.
10. Martin, M. et al. (2016) **WhatsHap: fast and accurate read-based phasing.** *bioRxiv preprint*.

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, PacBio, SMRT, SMRTbell, Iso-Seq, and Sequel are trademarks of PacBio. PacBio does not sell a kit for carrying out the overall No-Amp targeted sequencing method. Use of the No-Amp method may require rights to third-party owned intellectual property. SageELF is a trademark of Sage Science. Femto Pulse and Fragment Analyzer are trademarks of Agilent Technologies Inc. All other trademarks are the sole property of their respective owners.

© 2022 Pacific Biosciences of California, Inc. All rights reserved. For research use only.
102-193-604 V1 02DEC2021

PacBio