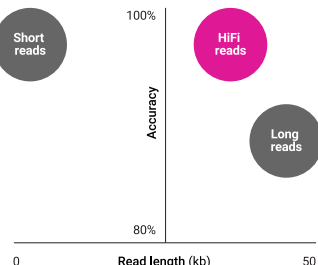


PacBio Sequel II/IIe ロングリードシーケンシング 受託サービス



AZENTA
LIFE SCIENCES

CCS/HiFiモードにより、20 kbものロングリードと高い配列正確性を同時に実現



旧モデル Sequel に比べ、リード数約8倍、ランタイム1.5倍。1 SMRT Cell 8Mあたり、~4百万の平均有効リード数を産出。より長くかつ配列正確性の高いHiFiリードにより、高感度な構造多型検出、信頼度の高い新規アセンブリ、より長いmRNA アイソフォームの同定が可能になりました。

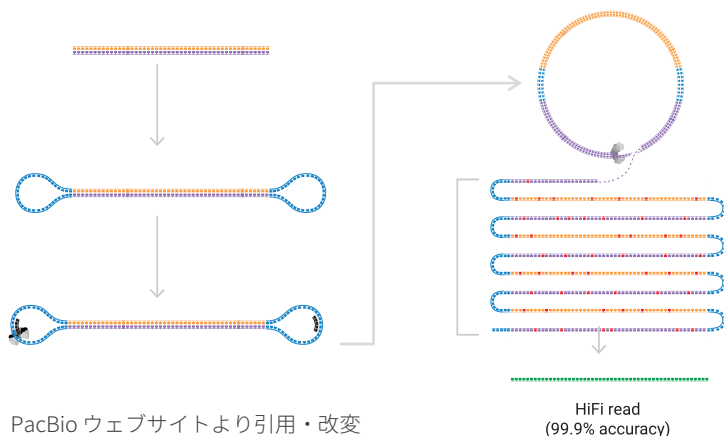


PacBio

HiFiリードとは？

二本鎖DNAインサートにヘアピン状のアダプターを付加、環状型配列のインサート部分を繰り返しシーケンシング。得られた各サブリードからコンセンサス配列を作成（CCSリード；Circular Consensus Sequencingリード）、そのうち>99.9%の高い配列正確性を持つリードをHiFiリードと呼びます。

PacBioの技術は、GCバイアスの影響を受けにくく、カバレッジが一定しています。リピート配列にも有効で、ショートリードが不得意とする構造多型・融合遺伝子同定にも効果的です。



PacBio ウェブサイトより引用・改変

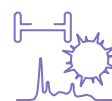
アゼンタ対応アプリケーション



Iso-Seq/完全長cDNA
アイソフォーム同定



全ゲノム解析
(構造多型、メチル化解析)



AAV-ITR配列検証



ロングアンプリコン
(1~10 kb PCR産物)



16S rRNA 全長解析



細菌ゲノムの
完全マップ解析



全メタゲノミクス



微生物 新規ゲノム配列同定
(プラスミド・ミトコンドリア・葉緑体・ウイルス含む)

キャンペーン条件・適用期間：2022/11/1~2023/3/31のサンプル提出分 ・AAV-ITR配列検証含む、一部アプリケーションは適用外
・オンラインシステムCILIMからのお見積り依頼時に、プロモーションコード：PBJPSZ22 の入力が必要



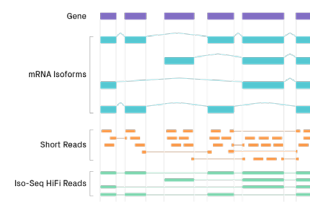
Iso-Seq / 完全長cDNA・アイソフォーム同定

アセンブルなしで転写産物の完全長配列を同定。リファレンスのない生物種での遺伝子配列の新規構築にも有効。

アゼンタ標準データ量・出力の目安

ヒト：3M HiFiリード/サンプル ヒト以外：300K HiFiリード/サンプル
平均鎖長：2~3 kb、最長：約10 kb

提出物：トータルRNA、総量 ≥ 600 ng、濃度 ≥ 45 ng/ μ l、
RIN ≥ 8.0 、A260/A280 = 2.0-2.2; A260/A230 = 1.8-2.1



データ解析概要

- ・融合遺伝子
- ・選択的スプライシング
- ・アイソフォーム同定
- ・選択的ポリアデニル化
- ・新規転写物、
- ・マイクロサテライトの同定

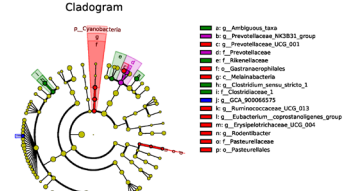
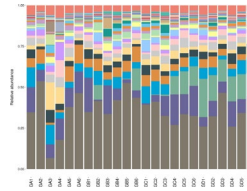
16S rRNA 全長解析による細菌叢解析

V3-V4可変領域のみを対象にした解析では困難なより種レベルに近い細菌叢の分類同定が可能

アゼンタ標準データ量・出力の目安

6K HiFiリード/サンプル

提出物：ゲノムDNA、総量 ≥ 30 ng、濃度 ≥ 2 ng/ μ l



各細菌種の相対的豊富度

LDA Effect Size解析によるサンプル間での相違の可視化

ロングアンプリコンシーケンシング

1 kbpから10 kb程度までのアンプリコンについて、継ぎ目のない正確な配列を取得

アゼンタ標準データ量・出力の目安

7K~10K HiFiリード/サンプル (サンプルあたりの最低データ量：7K HiFiリード。1K HiFiリード単位で追加が可能。)

提出物：精製済みアンプリコン (推奨1~6 kb、アンプリコン長の差は10%以内) *エチジウム染色およびUV照射厳禁
アンプリコンの断片長3 kb以内：総量 ≥ 2 μ g、濃度 ≥ 50 ng/ μ l
アンプリコンの断片長3~10 kb：総量 ≥ 6 μ g、濃度 ≥ 50 ng/ μ l

細菌ゲノムの完全マップ解析

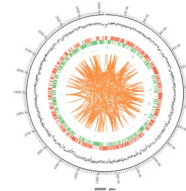
ショートリードによるエラー補正とロングリードの組み合わせでより完全な新規配列同定を実施

アゼンタ標準データ量・出力の目安

ロングリード：15x HiFiリードカバレッジ

ショートリード：100x カバレッジ

提出物：ゲノムDNA、総量 ≥ 5 μ g、濃度 ≥ 60 ng/ μ l、断片サイズ ≥ 10 kb



Genome circular plot

アセンブルされたゲノムから遺伝子予測とアノテーションを実施。ゲノム・遺伝子領域、GC含量、リピート部位の概要を表示。

全ゲノムシーケンシング

新規アセンブリではより長いコンティグ配列を生成。多型解析ではショートリードで検出困難な構造変異を同定。

アゼンタ標準データ量・出力の目安

- ・微生物、ウイルス、ミトコンドリア等の新規アセンブリ (ゲノムサイズ ~ 50 Mb) : 8-10K HiFiリード/サンプル
- ・ゲノム解析 (構造・SNP/InDel多型、DNAメチル化同定) : ハプロタイプあたり $\geq 15x$ HiFiリードカバレッジ

提出物 (微生物ゲノム新規アセンブリ) : ゲノムDNA、総量 ≥ 5 μ g、濃度 ≥ 60 ng/ μ l、断片サイズ ≥ 10 kb

提出物 (ゲノム多型解析) : ゲノムDNA、総量 ≥ 20 μ g、濃度 ≥ 60 ng/ μ l、断片サイズ ≥ 40 kb

* EDTAを含まないTris-HClあるいはDNase/RNaseフリーの水に懸濁

- ・ 記載のないアプリケーションについては、お問い合わせください。アプリケーションの納品デモレポートもご用意しております。
- ・ HiFiリード数は、インサート長・アプリケーション・サンプル品質等により変動するため、目安であり、保証するものではありません。
- ・ 核酸抽出からのご依頼も可能です。ご相談ください。

©2022 Azenta Life Sciences, Inc. 本サービスは研究用のみに使用できます。診断目的に使用することはできません。当印刷物に記載されている会社名および商品名などは、各社の商標または登録商標です。本印刷物記載の内容は2022年10月現在のものです。



アゼンタ株式会社 (旧社名 日本ジーンウィズ株式会社)
〒142-0043 東京都品川区二葉二丁目9番15号 NFパークビルディング 4F
電話：03-6628-2950 FAX：03-6628-2951 メール：sales.japan@azenta.com

代理店・取扱店記入欄