

用于新冠病毒的 HiFiViral SARS-CoV-2 试剂盒 全基因组测序——最佳实践

用于 SARS-CoV-2 的 HiFiViral 是一种简单易用、可扩展、经济高效的解决方案，可对整个 SARS-CoV-2 基因组进行测序。这种全套式解决方案采用了一种新方法，不仅能可靠地检出新变异，还能全面检测所有类型的突变。

为什么选择 HiFiViral 进行 SARS-CoV-2 基因组测序？



性能稳定：我们推出的这款全套式端到端解决方案采用了一种基于分子倒置探针 (MIP) 的方法，将 PCR 的简易性和经济高效与靶标捕获法的稳定性完美地结合起来。由于每个碱基都由 22 个探针覆盖，所以该分析可灵活检测病毒 SNV 和插入缺失。



捕获所有变异：675 bp 靶向片段和 HiFi 测序的准确性相结合，能够全面检测 SNV、插入缺失和结构变异。

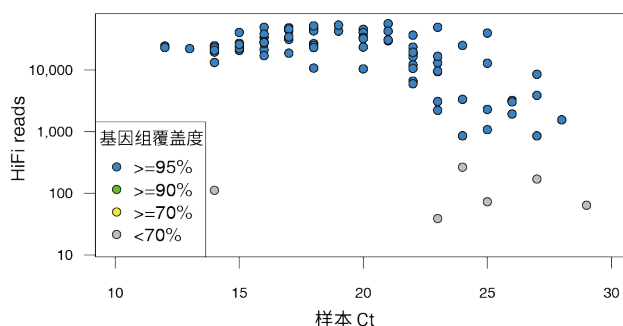


可扩展性：用于 SARS-CoV-2 的 HiFiViral 具备经济高效的紧急应变量能，可在单个平台上实现通量扩展。



简单易用：与基于 PCR 的富集分析相比，PacBio HiFiViral 试剂盒所需的工作量最多可减少 80%。“操作过程只需要连续加样”式的富集工作流程进一步减少了每一步中可能发生的预混合试剂和变色指示剂处理错误。

对鼻咽拭子具有稳定的性能



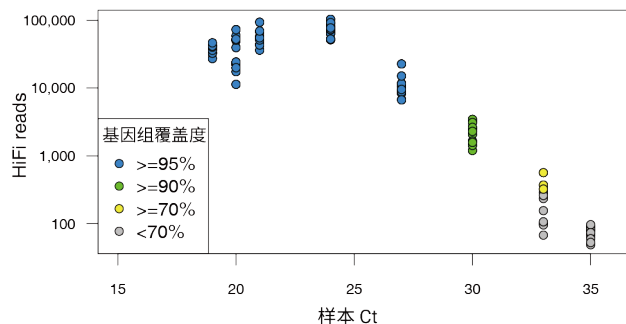
使用 HiFiViral SARS-CoV-2 试剂盒对具有广泛 Ct 值的鼻咽拭子中提取的 RNA 进行处理，以 96-plex 混合，然后在 Sequel[®] IIe 系统上进行测序。总体而言，93% 的样本基因组覆盖率 $\geq 90\%$ ^{1,2}。

准确检测所有突变类型



SMRT[®] Link v10.2 中的 HiFiViral SARS-CoV-2 分析应用程序可提供样本共有序列，根据参考样本检出突变，并标记潜在的多毒株样本。在这个监测样本中，定位到 S 基因的测序序列证明同时存在两种毒株^{1,2}。

与商业对照样本的结果一致



稀释对照样本，用于模拟 Ct 值为 20-35 的样本，然后以 96-plex 进行测序。对于 Ct ≤ 30 的样本，且仅有 1,000 条 HiFi reads 覆盖的情况下也能够得到完整的基因组^{1,2}。

HIFIVIRAL FOR SARS-COV-2 工作流程建议



对 SARS-CoV-2 RNA 样本进行富集并添加条形码³

- 首先从多达 384 个样本中提取 RNA 开始
- 汇集富集样本并生成 SMRTbell[®] 文库
- 仅需不到一小时的手动操作时间即可完成病毒富集

将提取的 RNA 样本添加到检测板中。
剩余的富集工作流程为“仅需要连续加样”流程。



相同的检测板可用于此
项检测的其他步骤

1. 添加反转录试剂 + 探针混合物



2. 添加填充混合物，用于创建环状 DNA



3. 通过添加纯化混合物来去除非环状 RNA/DNA



4. 将 PCR 混合物和预混合引物添加到条形码 + 扩增



5. 汇集样本并进行 SMRTbell 文库制备



在 Sequel II 或 Sequel IIe 系统上进行样本测序

- 最多可在一个 SMRT[®] Cell 8M 上装载 384 个样本
- 一次最多可装载 8 个 SMRT Cell，每周可处理 3,072 个样本



使用 SMRT Link v10.2 分析数据

- 一键完成隔夜测序与分析
- 生成可提交的文件，并使用直观的 QC 工具排除故障
- 只要有病毒 RNA，仅需 28-42 小时即可得到结果

主要参考文献

1. Presentation: Kingan, S. (2021) HiFiViral: A novel method for surveillance of SARS-CoV-2 that is robust across sample input quantities and the evolution of new variants. American Society of Human Genetics Virtual meeting 2021.
2. Poster: Kingan, S., et al. (2021) HiFiViral SARS-CoV-2: A kitted solution for genome surveillance that is robust across sample input quantities and new variants. SFAC 2021 poster.
3. Procedure + checklist – PacBio HiFiViral high-throughput multiplexing for full-viral genome sequencing of SARS-CoV-2. PacBio documentation.



进一步了解适用于新冠病毒的 HiFiViral SARS-CoV-2 试剂盒：pacb.com/COVID-19

本文件中的信息如有更改，恕不另行通知。PacBio 不对本文件中的任何错误或遗漏承担任何责任。某些通知、条款、条件和 / 或使用限制可能与您使用 PacBio 产品和 / 或第三方产品有关。适用的 PacBio 销售条款和条件，以及适用的许可条款，请参阅 <http://www.pacb.com/legal-and-trademarks/terms-and-conditions-of-sale/>。PacBio、PacBio 徽标、SMRT、SMRTbell 和 Sequel 为 PacBio 的商标。所有其它商标均为其各自所有者的专有资产。