

全基因组测序用于从头组装 — 最佳实践

PacBio® HiFi reads 可提供长读长（可达 25 kb）和高准确度 (> 99.9%)，即使面对最复杂的基因组，也可经济快速地生成连续、完整且正确的从头基因组组装序列。



连续性

长 Contig N50



完整性

没有缺失的碱基或
片段化基因



正确性

高碱基准确度和定相的
等位基因



计算

文件小，分析速度更快



Sequel® IIe 系统可为任何基因组提供经济高效且可扩展的 HiFi 测序

大型或复杂基因组

利用复杂多倍体的单倍型分辨率快速高效地组装大型基因组



27 Gb 的红杉六倍体基因组仅在两周内就完成了测序和组装

大规模人类基因组

使用灵活且可扩展的工作流程，每年可对来自各种样本类型的数百至数千个人类基因组进行测序



组装人类基因组仅需一天

“如果您的基因组不是 HiFi，那么它将不再是参考级质量。”

Kevin McKernan, *Medicinal Genomics*

HIFI 测序工作流程建议

从 DNA 到参考级质量基因组组装



建库

- 使用 SMRTbell® express template prep kit 2.0^{1,2}，在约 5 小时内从 $\geq 5 \mu\text{g}$ 未扩增的基因组 DNA 构建文库³
- 通过片段选择富集更长的插入片段



SMRT 测序

- 使用 Sequel II 或 IIe 系统和 SMRT® Cell 8M 根据所需覆盖度对复杂基因组进行测序
- 建议每个单倍型的覆盖度为 10-15 倍



数据分析

- 使用 SMRT® Link 基因组组装⁴，或 IPA、HiCanu、hifiasm 等开源工具⁵来组装和定相基因组
- 示例数据集，请访问 pacb.com/dataset

*每个 SMRT Cell 8M 的读长、read 数/数据以及其他测序性能结果因样本质量/类型和插入片段大小而异。

每套 Sequel II 或 IIe 系统每年最多运行 200 个样本 (2 Gb)

灵活选择 DNA 起始量

	DNA 起始量	基因组大小限制
标准 HiFi 测序 ¹	$\geq 5 \mu\text{g}$	无
低 DNA 起始量测序 ⁶	300 ng	1 Gb*
超低 DNA 起始量测序 ⁶ (基于扩增)	5 ng	500 Mb

*根据 DNA 起始量进行调整

主要参考文献

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.



如需了解更多有关全基因组测序用于从头组装的信息，请访问：
pacb.com/wgs



联系 PacBio 了解更多信息：
北美地区：nasales@pacb.com
南美地区：sasales@pacb.com
欧洲、中东和非洲地区：
emea@pacb.com
亚太地区：apsales@pacb.com

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、Iso-Seq 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。