

利用 5 种碱基的 HiFi 测序检测 DNA 甲基化

通过一次建库即可对遗传和表观遗传变异进行全基因组检测和定相


HiFi 测序会产生 4 种 DNA 碱基 (A、C、G 和 T) 的准确长读长 reads, 可提供全面的基因组表征^{1,2}。

但是, HiFi 测序不仅能够表征基因组, 而且还可以通过在 CpG 位点检测第五种碱基——5mC 来测量表观基因组。


- 检测不同区域的表观遗传模式
- 获取全基因组中的甲基化状态
- 识别等位基因特异性甲基化

	甲基化微阵列芯片	短读长测序	纳米孔测序	HiFi 5 种碱基的测序
SNV	✗	✓	✓	✓
插入缺失	✗	✓	✗	✓
SV	✗	✗	✓	✓
单倍型定相	✗	✗	有限	✓
全基因组	✗	✓	✓	✓
CpG 区域中的 5mC	有限	需要特殊的文库构建	需要特殊的数据处理, 与碱基识别相结合	✓

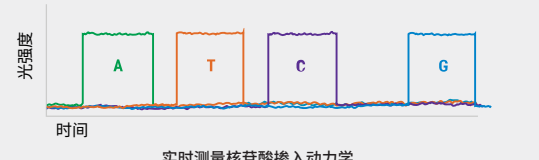
SMRTbell® 文库




Sequel® IIe 系统



通过 A、C、G、T、+5mC 进行 5 种碱基的 HiFi 测序



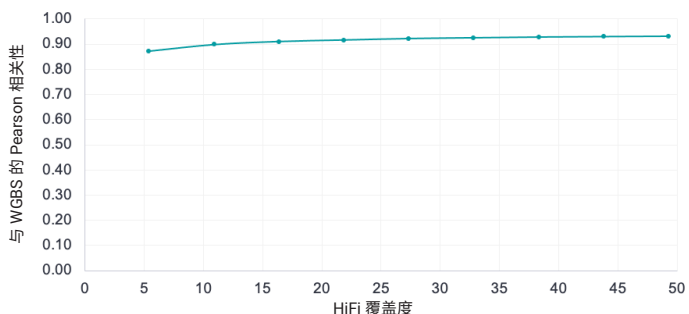
实时测量核苷酸掺入动力学



使用标准 BAM 标签编码的 5mC³
 MM:Z:C+m,4,12,16,4,16,19,44,10
 ML:B:C,249,4,247,177,210,228,245,244

Sequel IIe 系统可直接输出长且高精度的 HiFi reads, 并在所有 CpG 位点上标注 5mC 甲基化。无需像亚硫酸氢盐处理那样的特殊文库构建过程。

覆盖度



HiFi reads 中的甲基化检出与人类样本 HG002 的全基因组亚硫酸氢盐测序 (WGBS) 之间的相关性^{4,5,6}。

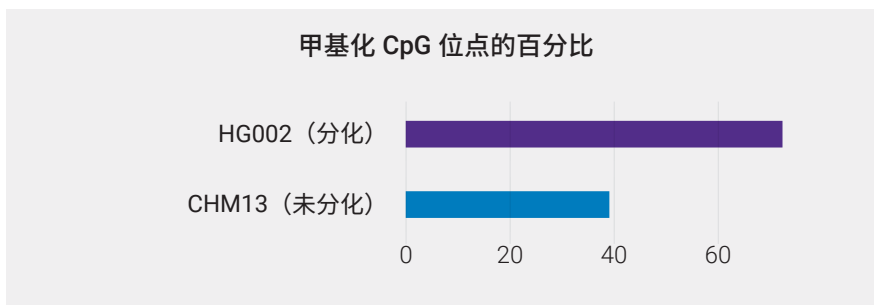
适用性

甲基化	物种	5 种碱基的 HiFi 测序
CpG 位点上的 5mC	人类和其他脊椎动物	✓
不同基序的 5mC	包括植物在内的其他真核生物	✓ 尽管是局部视图, 但依然有用
4mC 和 6mA	微生物	通过 SMRT® Link 微生物基因组分析实现

5 种碱基的测序可提供哪些信息

不同时间和空间的甲基化

单个样本的 HiFi 测序可检测整个基因组的甲基化模式（如转录起始位点的低甲基化）。对多个样本进行测序可识别甲基化差异。



在分化的人类细胞（如 HG002 类淋巴细胞）中，大多数 CpG 位点都会发生甲基化¹。在 CHM13（一种分化程度较低的人类细胞系）中，基因组的甲基化水平较低⁶。

亲本印记

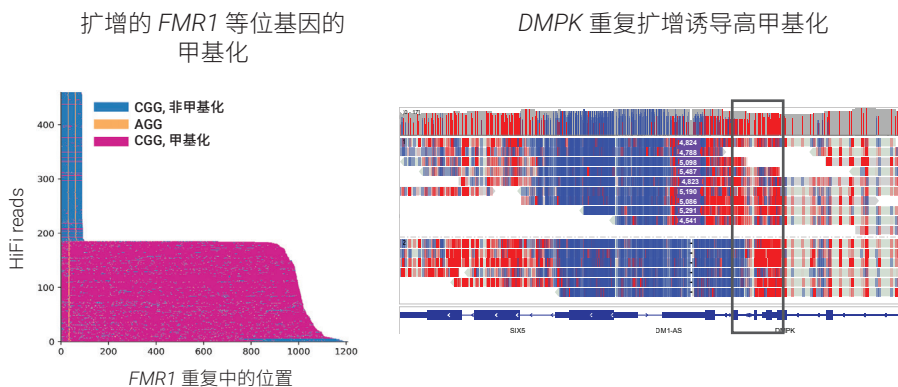
HiFi 测序能够同时对母本和父本单倍型的 read 进行定相并检测甲基化。这种方法能够直接揭示印记的模式，其中，染色体的甲基化状态取决于它遗传自母亲，还是父亲。



人类 Trio 中 PEG3 的母体印记。HiFi 测序能够对每个样本的单倍型进行定相，而 Trio 能够区分每个等位基因遗传自母亲，还是父亲。

罕见病中的非典型甲基化模式

非典型甲基化模式会导致 Prader-Willi 综合征等罕见疾病，是致病性重复扩增的重要因素，如 FMR1 位点发生的 CGG 扩增导致脆性 X 综合征。HiFi 测序具有高精度、长读长，有甲基化检测功能，是用于表征此类重复扩增的理想选择。



HiFi 测序能够在—个强直性肌营养不良样本（堪萨斯城儿童慈善医院）中识别并定向 NA07537 中的扩增 FMR1 重复序列的高甲基化以及与 DMPK 扩增相邻的区域。

了解 5 种碱基的测序：
pacb.com/epigenetics

主要参考文献

1. Nurk et al. (2022) The complete sequence of a human genome *Science*. 44–53
2. Olson et al. (2021) precisionFDA Truth Challenge V2: Calling variants from short- and long-reads in difficult-to-map regions *bioRxiv*
3. Sequence alignment/map optional fields specification
4. pb-CpG-tools PacBio GitHub
5. Foox et al. (2021) The SEQC2 epigenomics quality control (EpiQC) study *Genome Biology*
6. HG002 data release <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/?term=PRJNA586863>

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。

© 2022 PacBio. 保留所有权利。仅供科研使用。不可用于诊断目的。102-193-697 REV01 15APR2022

PacBio