

5-Base HiFiシーケンシングでDNAメチル化を検出

ゲノム、エピゲノムの変異検出およびフェージングを、同一ライブラリーから可能に

HiFi シーケンシングは、長く、正確な A、C、G、Tの4つのDNA塩基からなるリードを生成し、最も包括的なゲノム情報を提供します。^{1,2}

さらにHiFiシーケンシングはゲノムの塩基配列情報にとどまらず、「5番目の塩基」としてCpGサイトの5mCを検出することで、エピゲノム情報を同時に測定することが可能です。

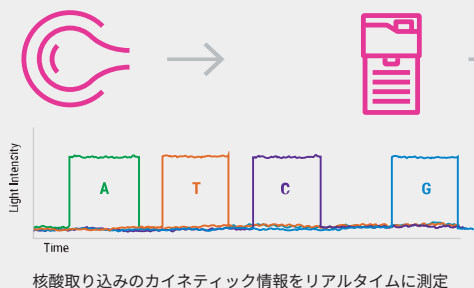
- ・ 領域ごとに異なるエピジェネティックパターンを検出可能
- ・ ゲノム全体のメチル化にアクセス可能
- ・ アリルに特異的なメチル化を同定可能

	Methylation microarrays	Short-read sequencing	Nanopore sequencing	HiFi 5-base sequencing
SNVs	⊗	⊙	⊙	⊙
Indels	⊗	⊙	⊗	⊙
SVs	⊗	⊗	⊙	⊙
Haplotype phasing	⊗	⊗	限定的	⊙
Genome-wide	⊗	⊙	⊙	⊙
5mC in CpG contexts	限定的	追加のライブラリー調製が必要	特殊なデータ処理が必要。ベースコールとの混同。	⊙

SMRTbell® library

Sequel® IIe system

A, C, G, T, に加え5mC を検出する 5-base HiFi シーケンシング

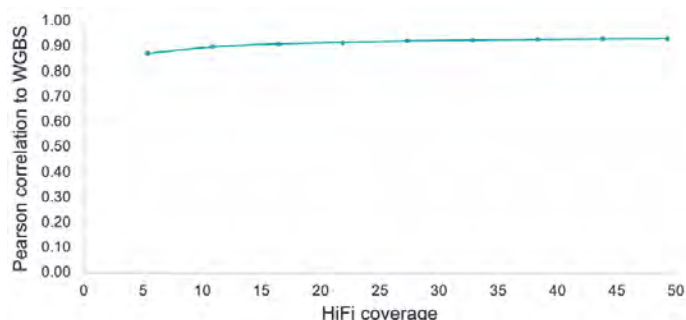


A C T G A C G G A C T G A T C G A C T G

5mC encoded with standard BAM tags³
 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は、ロングリードかつ高精度なHiFiリードに加え、すべてのCpGサイトにおける5mCメチル化のアノテーションを直接出力するシステムです。バイサルファイト処理のような追加のライブラリー調製は必要ありません。

カバレッジ



ヒト検体HG002の全ゲノムバイサルファイトシーケンス (WGBS) とHiFiリードにおけるメチル化コールの相関性。^{4,5,6}

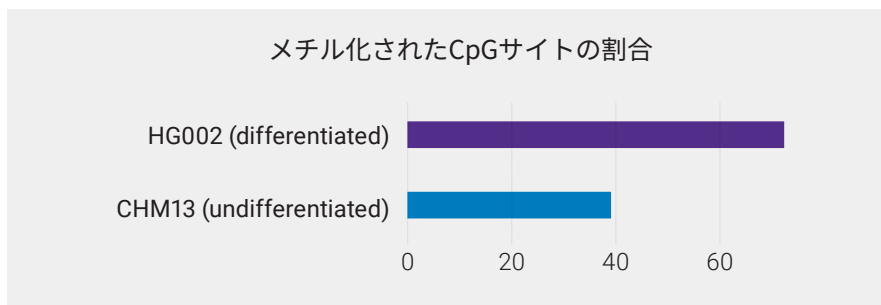
対象範囲

Methylation	生物種	5-base HiFi sequencing
5mC at CpG sites	ヒト、脊椎動物	⊙
5mC at various motifs	植物を含む真核生物	⊙ 部分的な視点として有用
4mC and 6mA	微生物	SMRT® Link microbial genome analysisで検出可能

5-base シークエンシングがもたらすもの

空間と時間にまたがったメチル化情報

1つのサンプルのからのHiFiシーケンシングデータから、転写開始点でのメチル化低下など、ゲノム全体のメチル化パターンを検出することができます。複数のサンプルをシーケンシングすることで、メチル化の違いを特定することができます。

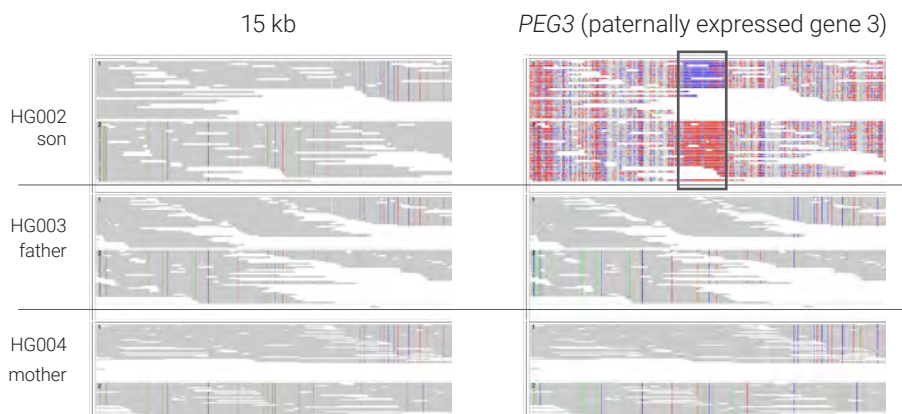


HG002リンパ芽球のような分化したヒト細胞では、ほとんどのCpGサイトがメチル化されています。¹分化度合いの低いヒト細胞株であるCHM13では、ゲノムのメチル化レベルが低いことを示しています。⁶

ハプロタイプフェージング

HiFiシーケンシングにより、母方および父方のハプロタイプへのリードのフェージングと検出を同時に行うことができます。

これは、染色体のメチル化状態が母方からあるいは父方から受け継いだかによって異なる、インプリンティングのパターンを直接的に明らかにするものです。

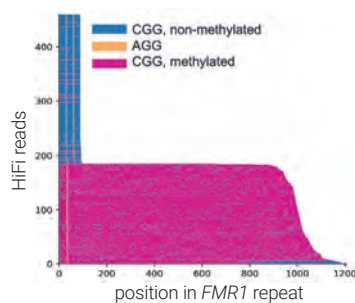


ヒト Trio 解析による PEG3 の母方インプリンティング。HiFi シーケンシングにより、サンプルごとのハプロタイプのフェージング解析が可能。どのアリルがどちらの親から伝達されたかを特定することができる。

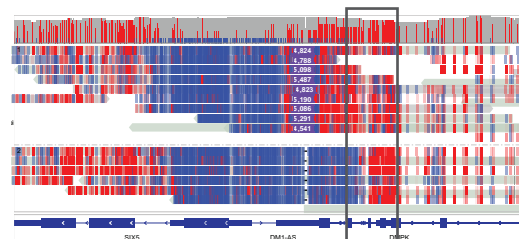
希少疾患における非典型的メチル化パターン

非典型的メチル化パターンは、プラダー・ウィリ症候群などの希少疾患の原因となり、脆弱X症候群の原因となる *FMR1* 遺伝子座のCGG伸長といった病原性リピート伸長の重要な要因となっています。高精度、ロングリード、メチル化検出を備えたHiFiシーケンシングは、こうしたリピート伸長の解析に理想的です。

伸長 *FMR1* アレルのメチル化



DMPK リピート伸長がハイパーメチル化を誘導



HiFiシーケンシングにより、NA07537サンプルの *FMR1* リピート伸長と、筋緊張性ジストロフィーのサンプルの *DMPK* 伸長に隣接する領域において、ハイパーメチル化のフェージングと検出をおこなった。(Children's Mercy Kansas City)



5-base シーケンシングの詳細はこちら:

pacb.com/epigenetics

またはトミーデジタルバイオロジーまでお問い合わせください。

Phone: 03-5240-0843

Email: info_pac@digital-biology.co.jp

KEY REFERENCES

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. Foxx 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>

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, SMRT, SMRTbell, and Sequel are trademarks of PacBio. All other trademarks are the sole property of their respective owners.

© 2022 PacBio. All rights reserved. Research use only. Not for use in diagnostic procedures.
102-193-697 REV01 15APR2022