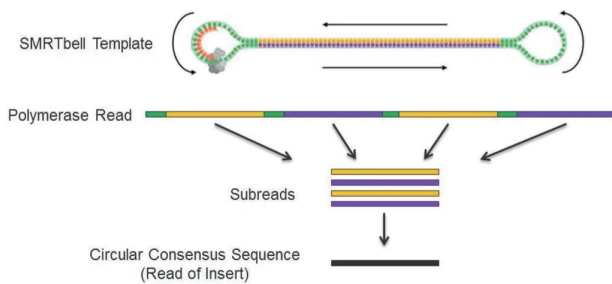


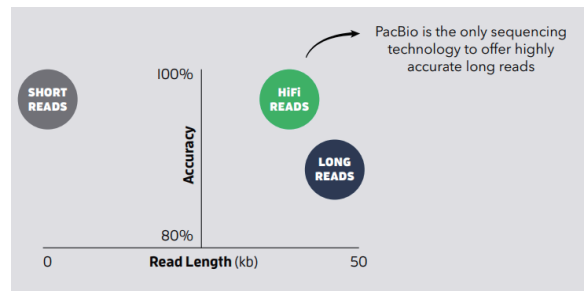
全长扩增子HiFi测序

产品简介

微生物多样性测序是利用二代测序平台,对16s rDNA/18S/ITS特定区域PCR产物进行高通量测序。HiFi reads (High fidelity reads)是PacBio公司基于Sequel II平台推出的CCS (Circular Consensus Sequencing) 测序模式产生的兼具长读长和高准确度的测序序列, 又称CCS reads。通过SMRT单分子实时测序技术,可获得16s rDNA/18S/ITS全长序列。PacBio独有的CCS测序模式可极大提升单碱基的准确率,从而能够获得高精度的16s rDNA/18S/ITS序列,进而可以在种甚至菌株水平精确解析微生物群落物种组成。



CCS 测序模式基本原理



HiFi reads

产品优势

01 最新分析软件

基于QIIME 2分析流程,调用DADA2去噪,获得精确ASV序列

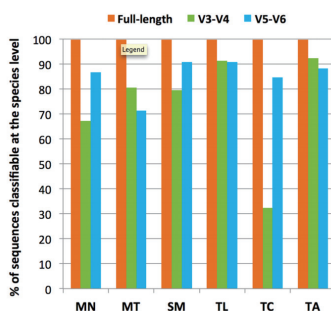
02 数据质量高

采用CCS测序模式,获得高准确度CCS序列,准确率>Q20

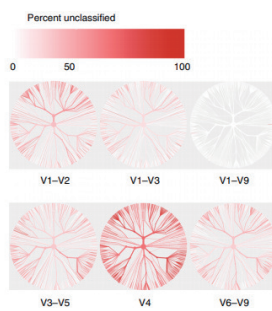
03 分辨率高

全长序列分析,物种水平鉴定

全长扩增子优势



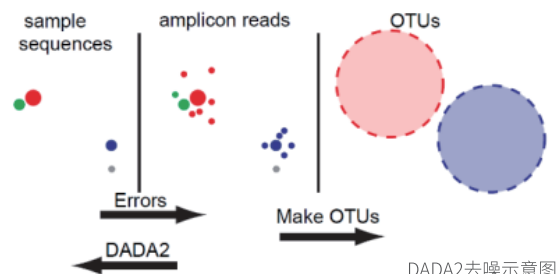
全长16S rRNA序列能精确分析和鉴定菌群^[1]



全长16S rRNA序列能够提高物种分辨率^[2]

DADA2优势

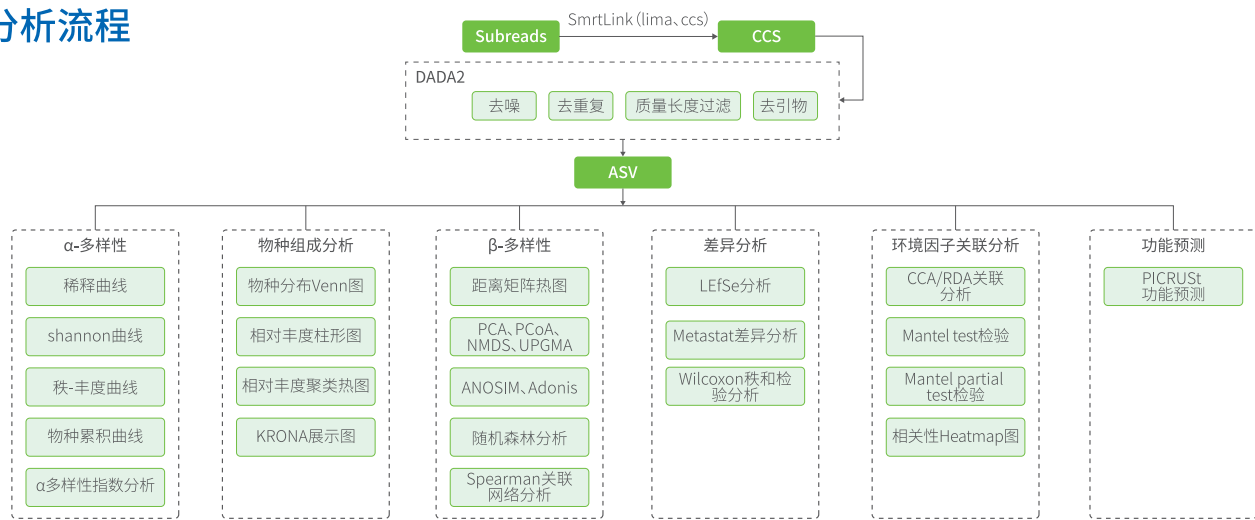
- 准确性更高,与常规方法相比,能够检测微小变异,输出更少的错误序列;
- 分辨率更高,能够对扩增子测序数据进行菌株水平变异的研究。



技术参数

产品	测序平台	测序数据量	送样要求	项目周期
全长扩增子测序	PacBio Sequel II	>5000CCS/样	DNA浓度≥10ng/μL 总量≥200μg	45个自然日 (最低送样量>12个)

分析流程



案例分析

单核苷酸分辨率的全长16S rRNA基因的高通量扩增子测序^[3]

期刊名: *Nucleic Acids Research*

时间: 2019年7月

影响因子: 9.13

测序: PacBio Sequel平台

摘要: 16S rRNA基因扩增子测序被广泛用于描述微生物群落。研究者提出DADA2分析方法, 使用该方法对全长16s测序数据进行分析, 结果表明DADA2具有单核苷酸分辨率和近乎零的错误率。作者从模拟群落中准确无误地恢复了全长16S序列变体的全长, 恢复的16S基因全长序列使大肠杆菌菌株被正确地归入O157:H7和K12亚种分支。在人类粪便样本中, 表现出很强的技术重复性, 并能够在几个大肠杆菌菌株中恢复16S rRNA等位基因的全序列。

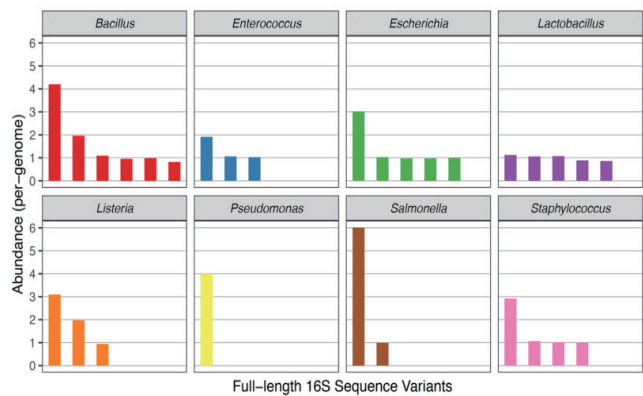


图1 在Zymo模拟群落中检测到的全长16S rRNA基因扩增子序列变体(ASV)的丰度。使用DADA2软件, 可以从微生物群落中恢复16S管家基因的所有拷贝。

表1 不同算法对模拟群落PacBio扩增子测序数据分析的准确性

Dataset	Method	Feature Type	Total	TP	FP	Singleton	Strains Detected
Zymo	DADA2	ASVs	29	29	0	0	8
	mothur	OTUs	24	8	5	11	8
	uparse	OTUs	8	8	0	0	8
HMP	DADA2	ASVs	51	51	0	0	17
	mothur	OTUs	29	16	4	9	16
	uparse	OTUs	16	16	0	0	16

DADA2可检测到更全的菌株信息

参考文献:

- [1] Pootakham W, Mhuantong W, Yoocha T, et al. High resolution profiling of coral-associated bacterial communities using full-length 16S rRNA sequence data from PacBio SMRT sequencing system[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 1-14.
- [2] Johnson J S, Spakowicz D J, Hong B Y, et al. Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis[J]. *Nature communications*, 2019, 10(1): 1-11.
- [3] Benjamin J. Callahan, Joan Wong, et al. High-throughput amplicon sequencing of the full-length 16S rRNA gene with single-nucleotide resolution[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019.

武汉菲沙基因信息有限公司

Wuhan Frasergen Bioinformatics Co., Ltd.

武汉市东湖新技术开发区高新大道666号 邮编: 430075

武汉菲沙基因组医学有限公司

Wuhan Frasergen Genomic Medicine Co., Ltd.

武汉市东湖新技术开发区高新大道666号B8栋 邮编: 430075

嘉兴菲沙基因信息有限公司

Jiaxing Frasergen Bioinformatics Co., Ltd.

嘉兴市嘉善县大云镇创业路555号C2栋 邮编: 314100

北京研发中心

Beijing Research Center

北京市海淀区中关村南大街12号科技综合楼 邮编: 100081



www.frasergen.com