

通过纳米孔长读长测序解析结构变异

结构变异 (SV) 定义为长达 50 bp 及以上的变异, 在人类基因组中产生的变异碱基是单核苷酸多态性 (SNP) 的十倍¹。鉴于已知多种正常表型和异常表型均具有致病作用, 全面表征 SV 的需求日益突出。纳米孔测序设备可生成天然 DNA 长读长序列, 极大地提高了检测的准确度, 即使是最大型的 SV 也能准确检测, 包括那些其他技术无法识别的区域²。

在本文中, 我们介绍了一个简单的工作流程, 使用 PromethION™ 测序设备系列对人类血液样本进行高效的全基因组 SV 研究。

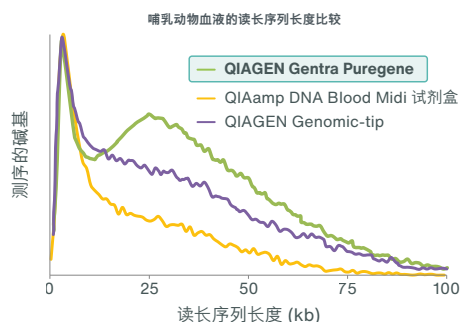


提取: 获得高分子量 DNA

选择合适的提取方法通常要在起始量、预期片段长度、实验室经验和培训时间之间做权衡。如需大量生成长读长数据, 建议使用 **QIAGEN Gentra Puregene Blood 试剂盒**。



更多类型的样本提取, DNA 储存和污染物处理的指导请参考:
community.nanoporetech.com/docs/prepare

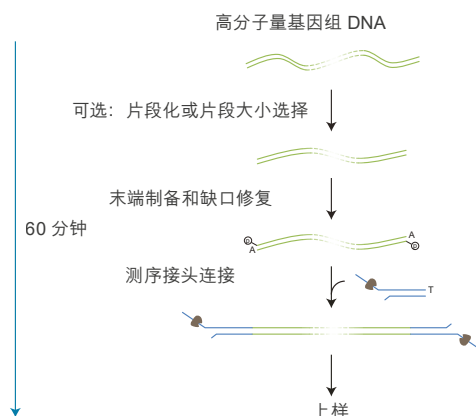


文库制备: 选择试剂盒

纳米孔测序的读长序列长度没有上限, 通常读长可达数十或数百 kb, 目前的记录超过 4 Mb。片段化是可选步骤: 无需 DNA 片段化的工作流程简单, 但进行打断和片段大小选择可以增加 N50 读长。建议使用 **Oxford Nanopore 的短片去除扩展 (Short Fragment Eliminator Expansion) 试剂盒** 来选择 >25 kb 的片段, 并使用 **Diagenode Megaruptor 3** 来打断。



关于长片段大小选择的更多信息:
community.nanoporetech.com/extraction_method_groups/size-selection



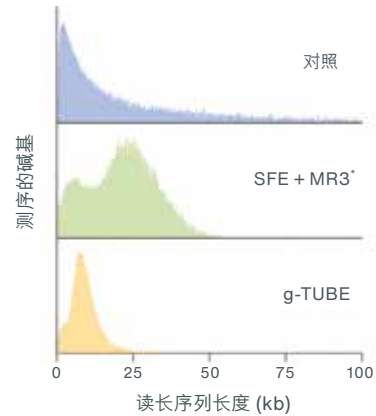
如需制备基因组 DNA 用于纳米孔测序, 建议使用**连接测序试剂盒**。该试剂盒可提供高通量并控制读长序列长度。

测序: 使用 PromethION 生成高产量



为了最大限度地提高通量, 建议在 PromethION 测序芯片上进行测序。PromethION 设备系列包含功能强大的台式设备 P24 和 P48, 可使用多达 24 或 48 张 PromethION 测序芯片进行测序。紧凑型 P2 设备则针对较低的样本通量要求, 通过两张独立的高产量 PromethION 测序芯

关于测序芯片清洗试剂盒的更多信息:
store.nanoporetech.com/flow-cell-wash.html



*短片段去除 (Short Fragment Eliminator) 试剂盒
+ Diagenode Megaruptor 3

片, 为测序提供灵活性。在单张 PromethION 测序芯片上, 可以 30x 覆盖度测序 72 小时; 使用**测序芯片清洗试剂盒**进行核酸酶冲洗, 然后每 24 小时加载一次新的文库, 可使通量最大化。

关于 PromethION 的更多信息: nanoporetech.com/products/promethion

分析: 无需命令行, 即可识别 SV

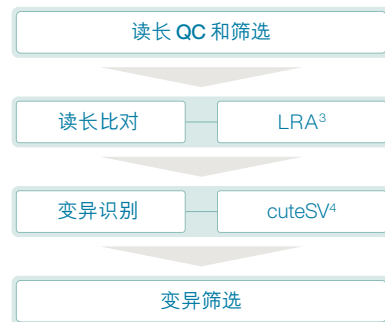
如需在纳米孔测序数据中识别变异, 建议使用 **wf-human-sv** (可从 GitHub 获取)。该工作流程使用机载碱基识别产出的 FASTQ 文件, 比对给出的 FASTA 参考基因组, 识别 >50 bp 的插入、缺失和重复, 然后输出已识别序列变异的 VCF 文件和 QC 报告。

EPI2ME Labs 也以交互式、引导式教程的形式提供此分析工作流程。点击[此处查看教程: labs.epi2me.io/nbindex/](https://labs.epi2me.io/nbindex/)

对于不想使用命令行的人员, 我们提供基于云的 EPI2ME™ SV 工作流程, 可对人类全基因组进行全自动 SV 分析, 之后生成 VCF 文件。

关于数据分析解决方案的更多信息:
nanoporetech.com/analyse

FASTQ 输入文件



VCF 输出文件

更多信息请访问: nanoporetech.com/sv

参考文献:

1. Eichler, E.E. Genetic Variation, Comparative Genomics, and the Diagnosis of Disease. *N. Engl. J. Med.* 4:381(1):64-74 (2019).
2. Ebbert, M.T.W. et al. Systematic analysis of dark and camouflaged genes reveals disease-relevant genes hiding in plain sight. *Genome Biol.* 20(1):97 (2019).
3. Chaisson, M. et al. GitHub: LRA [Online]. Available at: github.com/ChaissonLab/LRA [Accessed: 12 September 2022].
4. Jiang, T. et al. Long-read-based human genomic structural variation detection with cuteSV. *Genome Biol.* 21:189 (2020).



微信公众号: [nanoporetech](https://nanoporetech.com)
www.nanoporetech.com

Oxford Nanopore Technologies、风车图标、EPI2ME、Flongle、GridION、Metrichor、MinION、MinKNOW、PromethION、SmidgION、Ubik 和 VolTRAX 是 Oxford Nanopore Technologies plc 在不同国家的注册商标。包含的所有其他品牌和名称均为其各自所有者的财产。© 2022 Oxford Nanopore Technologies plc. 版权所有。Flongle、GridION、MiniON、PromethION 和 VolTRAX 仅供研究使用。WF_1042(CN)_V4_15Sept2022