

高解像度シーケンシングによる複雑な微生物群集の解析・特性評価


マイクロバイオームとは、私たちの体内、体の表面、そして周囲や、私たちが暮らしている環境中に生息する細菌、真菌、ウイルスなど何兆もの微生物の集合体のことを指します¹。ヒトの腸内、動物の体内、建造環境、自然生態系における微生物群集の組成を明らかにし、微生物同士がどのように相互作用しているかを探ることは、ヒトや動物の健康、環境衛生における微生物の役割を理解する上で重要なことです。メタゲノミクスおよびマイクロバイオームシーケンシングに最適な、正確かつ柔軟な HiFi ソリューションにより、培養の必要なく、微生物や微生物群集について高解像度で解き明かすことができます。

HiFi シーケンシングの比類なき精度とロングリードにより、以下のために科学者が必要とする柔軟性と高解像度が得られます。

- 培養することなく、微生物群集全体を株レベルの解像度で包括的に解析
- ヒトや動物の健康や環境衛生における、複雑な微生物群集の役割を理解するための特性評価
- 新種の同定と完全な特性解析、新規ゲノムの完全なアセンブリ

「PacBio を採用することで、我々はマイクロバイオームに含まれる豊富な細菌のほぼすべてについて、**完全なゲノムをシーケンシング**できるようになりました。ショートリードを用いた研究では、**1 種類の微生物についてさえ完全な配列を得ることはほとんどありませんでした。**」²

— Mikhail Kolmogorov (アメリカ国立がん研究所)



16S 全長配列

複雑なマイクロバイオームの真の多様性を、株レベルの高精度な解像度で解明

ショットガン・メタゲノムプロファイリング

種を正しく検出する高精度な分類の実現と豊富な機能情報の取得

ショットガン・メタゲノムアセンブリ

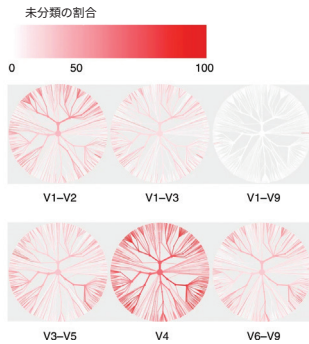
低カバレッジでも、より多くの高品質メタゲノムアセンブリゲノム (HQ MAG) とより多くの環状単一コンティグ MAG を回収

「**HiFi リードにより、断片的なアセンブリではなく、メタゲノムのほぼ全体像を作成することができます。すでに希少疾患の診断に応用されている全ゲノム解析のように、全メタゲノム解析も近いうちに医学や他の多くの分野で応用されるようになるかもしれません。**」²

— Pavel A. Pevzner (カリフォルニア大学サンディエゴ校)

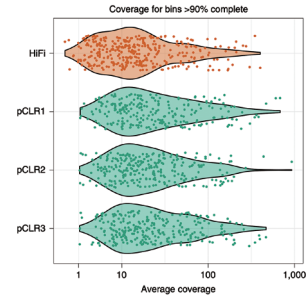
16S 全長配列は、ヒト腸内のすべての分岐群をバイアスなしに解明³

- 各細菌属の 16S 配列のうち、種レベルで同定できないものの割合は、どの可変領域を用いるかによって大きく変化
- ヒトの腸内には幅広い種類の細菌群が存在するが、全長配列 (V1 ~ V9) を用いることで、存在する可能性のあるすべての種をバイアスなしに同定可能



HiFi データでは、特に低カバレッジにおいて、ノイズの多いロングリードデータよりも高品質な MAG が得られる⁴

- HiFi は相対存在頻度の低い種も完全な MAG にアセンブリし、高品質の bin は、ノイズの多いロングリード (pCLR) データセットと比較して、10×カバレッジ以下の HiFi ビンが相当数存在することを明らかにした
- >90% の完全なビンでは、HiFi の平均カバレッジは pCLR より低く、1×に満たないものもあり、pCLR (1×未満は存在しない) とは対照的

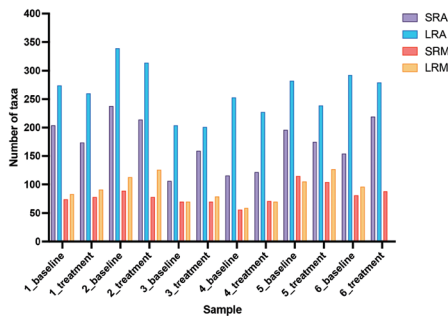


「このような高品質のメタゲノムアセンブリは、メタゲノム解析における従来のやり方を根本的に変え、微生物群集の生物学的および生物医学的な意義に光を当てることになるかもしれません。」⁵

— Xiaowen Feng (ハーバード大学医学大学院 ダナ・ファーバー癌研究所)

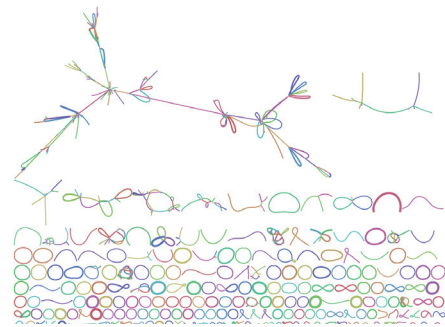
HiFi データからより多くの分類群を高精度で取得し、アンプリコン法およびショットガン法に活用⁶

- ショットガンメタゲノミクスからノイズを除去したあと、アンプリコン法の方がショットガン・メタゲノミクスよりも多くの分類群を検出
- ロングリードアンプリコン (LRA) とロングリードショットガン・メタゲノミクス (LRM) の両方で、ショートリードを用いた場合よりも多くの分類群を検出



高精度な HiFi リードにより、hifiasm-meta でより多くの MAG を用いることで、メタゲノムアセンブリがさらに進化⁵

- 実験的に得られた 7 つのデータセットで評価したところ、hifiasm-meta は 1 データセットあたり数十から数百の完全な環状細菌ゲノムを再構築した
- HiFi は、完全な環状単一コンティグ MAG の再構築数において他のメタゲノムアセンブリ手法を凌駕



Learn more about our applications: pacb.com/metagenomic-solutions

主な参考文献

- <https://www.niehs.nih.gov/health/topics/science/microbiome/index.cfm>
- Baxt, J. (2022, Jan 4). Long-reads and powerful algorithms identify "invisible" microbes.
- Johnson, J. S., et al. (2019) Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nature Communications*. 10(1), 5029.
- Bickhart, D. M., et al. (2022) Generating lineage-resolved, complete metagenome-assembled genomes from complex microbial communities. *Nature biotechnology*. 0.1038/s41587-021-01130-z
- Feng, X., et al. (2022) Metagenome assembly of high-fidelity long reads with hifiasm-meta. *Nature methods*. 10.1038/s41592-022-01478-3
- Gehrig, J., et al. (2022) Finding the right fit: evaluation of short-read and long-read sequencing approaches to maximize the utility of clinical microbiome data. *Microbial Genomics*, 8(3), 10.1099/mgen.0.000794.

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, Iso-Seq, and Sequel are trademarks of PacBio. All other trademarks are the sole property of their respective owners.